Zur additiven Fluoreszenzanalyse petrochemisch relevanter polycyclischen Aromaten in Gemischen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

vorgelegt der Abteilung für Chemie

an der Ruhr-Universität Bochum

von

Denis K. N. Aghaizu

aus Akuma - Nigeria

Tag der Disputation: 13. Mai 1976

Zur additiven Fluoreszenzanalyse petrochemisch relevanter polycyclischen Aromaten in Gemischen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
vorgelegt der Abteilung für Chemie
an der Ruhr-Universität Bochum

von

Denis K. N. Aghaizu

aus Akuma - Nigeria

Tag der Disputation: 13. Mai 1976

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Referent: Prof. Dr. G. BERGMANN

Korreferent: Prof. Dr. H. SPECKER

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Mai 1972 bis Juli 1975 am Lehrstuhl für Analytische Chemie der Ruhr-Universität Bochum ausgeführt.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. G. Bergmann, möchte ich für die Überlassung des Themas, die fördernden Ratschläge und Anregungen sowie für das stets gezeigte Interesse an dieser Arbeit sehr herzlich danken.

Meinen Lieben Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	7
2.	Ausgangsposition der Arbeit	9
2.1.	Literaturübersicht	9
2.1.1.	Allgemeines	9
2.1.2	Aromaten in Gemischen	12
2.2.	Problemstellung	23
3.	Molekülfluoreszenzspektroskopie in Lösung	25
3.1.	Theoretische Grundlagen	25
3.1.1.	Fluoreszenzfähigkeit der Aromaten	3o
3.2.	Analytische Aspekte	33
3.2.1.	Qualitative Anwendung	34
3.2.2.	Quantitative Beziehung	37
3.3.	Gegenüberstellung von Absorptions- und Fluoreszenzmethoden	41
4.	Einflußfaktoren bei der Fluoreszenz-bestimmung der Aromaten	48
4.1.	Lösungen reiner Aromaten	48
4.1.1.	Einfluß des Lösungsmittels	49
4.1.2.	Einfluß der Temperatur	51
4.1.3.	Einfluß der Konzentration	52
4.1.3.1.	Löscheffekte	54

4.1.4.	Einfluß des Luftsauerstoffs	61
4.1.5	Einfluß der Lichtstreuung	62
4.2.	Aromaten neben Fremdmolekülen	62
4.2.1.	Fluoreszenz der Aromaten mit Fremdmoleküle ohne Eigenabsorption	63
4.2.1.1.	Prüfung auf Streuung	64
4.2.2.	Perylenbestimmung mit Zusatz von Fremdmolekülen mit Eigenabsorption	67
4.3.	Bestimmung von Perylen in Mineralöl	78
4.3.1.	Bestimmung des Perylens in Mineralöl mit Vortrennung durch Fluoreszenz-Indikator-Absorptions-Verfahren ("FIA")	79
4.3.1.1.	Prüfung der Reproduzierbarkeit des FIA-Verfahrens	8o
4.3.1.2.	Bestimmung von Perylen in Mineralöl durch Messung der Fluoreszenz der FIA-Zonen	85
4.3.2.	Bestimmung von Perylen in Mineralöl ohne Vortrennung	9o
5.	Fluoreszenzanalyse von Mehrkomponentensystemen der Aromaten	99
5.1.	Spektren der Reinkomponenten Anthracen und Perylen	1oo
5.2.	Modelle zur Additivitäts-Beziehung der Mischfluoreszenz	1o4
5.2.1.	Modell I Annahme der Gültigkeit der reinen Additivität der Fluoreszenzintensität der Komponenten	1o5

5.2.2.	Modell II Annahme der gegenseitigen Beeinflussung der Emissionskoeffizienten	1o8
5.2.3.	Modell III Einfluß höherer Glieder	11o
5.3.	Meßergebnisse und Diskussion	112
5.3.1.	Berechnung der Koeffizienten	113
5.3.1.1.	Auflösung der Modelle nach den Koeffizienten	114
5.3.1.2.	Emissionskoeffizienten für Anthracen	118
5.3.1.3.	Emissionskoeffizienten für Perylen	122
5.3.1.4.	Vergleich der Modelle	122
5.3.1.5.	Beziehung der Emissionskoeffizienten zu den Anregungs- und Emissionswellenlängen	131
5.3.2.	Graphische Ermittlung der Emissionskoeffizienten	134
5.3.3.	Beziehung der Emissionskoeffizienten zu den Extinktionskoeffizienten	14o
5.3.3.1.	Unterschiedlicher Einfluß des Lösungsmittels	142
5.3.4.	Vergleich der Emissionskonstanten mit den Fluoreszenzspektren	15o
6.	Zusammenfassung	153
7.	Anhang	157
7.1.	Experimentelles	157
7.1.1.	Herkunft und Prüfung der verwendeten Substanzen	157

7.2.	Aufnahmetechnik und Auswertung	158
7.2.1.	Herstellung der Lösungen	161
7.2.2.	Fluoreszenzmessung	161
7.2.2.1.	Bestimmung der spezifischen Intensitäten (μg^{-1})	163
7.3.	Regressionsanalyse	164
7.3.1.	Einfache Regression	164
7.3.2.	Multiple lineare und nichtlineare Regression	164
7.4.	Programme	168
7.5.	Ergänzungsabbildungen	171
8.	Literatur	177

1. Einleitung

Die spektroskopische Untersuchung der Kohlenwasserstoffe in der Umwelt ist seit langem ein Gegenstand intensiver Untersuchungen. In diesem Gebiet gewinnt die Aromatenanalyse immer mehr an Bedeutung.

Besonders im Zusammenhang mit der Problematik der Umwelthygiene geben neuere Erkenntnisse Hinweise auf die mehr oder weniger starke Beteiligung vor allem der kondensierten polycyclischen Aromaten im Mechanismus der chemischen Carcinogenese.

Diese Aromaten liegen oft in sehr kleinen Mengen vor. Da aber bekanntlich ihre carcinogene Wirkung sich u.a. als irreversibel und kumulativ erwiesen hat[3], besteht in dieser Hinsicht kaum noch eine ungefährliche Grenzdosis, und es gilt, die Nachweisgrenzen dieser Stoffe immer weiter nach unten zu drücken, um kleinste Konzentrationen noch erfaßbar zu machen.

Viele in Luft und Abgasen anzutreffende polycyclische Aromaten haben ihren Ursprung in Mineralölen und deren Folgeprodukten. Die Analyse dieser Mineralölaromaten steht nicht nur in technisch-naturwissenschaftlicher, sondern auch in gesundheitspolitischer Hinsicht im Mittelpunkt des Interesses. Ferner liegen sie oft in komplexen Mischungen vor, deren Analyse aufwendige und zeitraubende Trennungsvorgänge erfordert. Damit

entsteht ein dringender Bedarf für nachweisstarke und relativ schnelle Analysenverfahren. Hierzu bietet sich die Fluoreszenzspektroskopie - mit ihren analytischen Vorzügen, wie u.a. Empfindlichkeit und Selektivität - als eine der fähigsten Analysenmethoden für Aromaten an. Da sich Absorption und Fluoreszenz der aromatischen Gemische in dem relativ schmalen Spektralbereich überlappen, wird die quantitative Analyse der Komponenten aufgrund der Additivität ihrer Absorption und Emission immer notwendiger.

Die Kombination der oben bereits erwähnten Vorzüge der Fluoreszenz mit der Additivität der Emission wäre ein wesentlicher Fortschritt für die Mehrkomponentenanalyse der Aromaten.

2. Ausgangsposition der Arbeit

2.1. Literaturübersicht

2.1.1. Allgemeines

Obwohl die erste Beobachtung der Fluoreszenz bereits um 1575 von Monards gemacht wurde, beschrieb G. Stokes [1] 1852 die erste Untersuchung über diese Erscheinung, in der auch die nach ihm genannte Verschiebung der Lichtwellenlänge (Stokessche Verschiebung) festgestellt wurde. In der Folgezeit wurde die analytische oder phänomenologische Bedeutung fluoreszierender Stoffe durch die theoretische Interpretation der Lumineszenzprozesse ergänzt. So entwickelten Jablonski et al. [2] auf quantenmechanischer Grundlage ein Modell, das die Energieterme eines durch Strahlung angeregten Moleküls verdeutlicht. Daraus wird ersichtlich (Abbildung 2-1), wie die verschiedenen Zustände eines Moleküls miteinander in Verbindung stehen. Ob ein Molekül fluoreszenzfähig ist, hängt nicht zuletzt davon ab, wie groß die Abstände zwischen den Energietermen sind und auch wie sie ineinander übergehen. Die Erkenntnis, daß die Mehrzahl der fluoreszierenden Stoffe aromatischen oder aromatenähnlichen Charakter besitzen, führte zu besonders intensiver Bearbeitung der Fluoreszenz aromatischer Systeme.

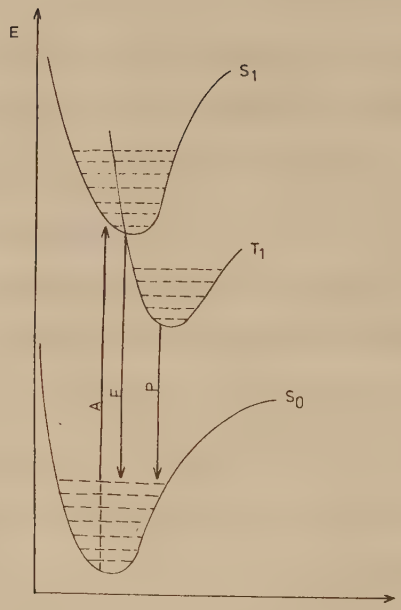


Abbildung 2-1: Potentialenergie der elektronischen Zustände

A = Absorption; F = Fluoreszenz;

P = Phosphoreszenz

Kistiakowsky, Nelles und Cuthberthson sowie Ingold, Wilson und Wilson [4,5,6,7] beschäftigten sich mit der Fluoreszenz des Benzols als einfachstem Glied dieser Stoffklasse. Die Ergebnisse aus diesen Arbeiten lieferten umfangreiches Material zur Fluoreszenzspektralanalyse des Benzols mit Emission zwischen 265 nm und 320 nm.

Untersuchungen von Pringsheim sowie von Prichokto und Faidysch [8] widmeten sich den Fluoreszenzspektren von Naphthalin (Emissionsbereich: 310 nm bis 380 nm). Für Anthracen stellten Kortüm und Finck [9] ein einfaches Bandenspektrum mit Maxima bei 366 nm, 384 nm, 405 nm und 430 nm fest. Clar [10] stellte die Fluoreszenzcharakteristika zahlreicher Aromaten zusammen.

Die Fluoreszenzspektren lassen einige für den Chemiker brauchbare Regelmäßigkeiten erkennen:

1. Das Spektrum der Fluoreszenzemission ist qualitativ von der Anregungswellenlänge unabhänig, da alle Emissionen praktisch aus dem Schwingungsgrundzustand des S_1-Niveaus erfolgen [11].
2. Da die Verteilung der Schwingungsniveaus im angeregten Zustand (S_1) der strukturbestimmende Faktor der Absorptionsbanden ist - und die Verteilung im Grundzustand (S_0) für die Fluoreszenzübergänge strukturbestimmend - ist das Emissionsspektrum dem Absorptionsspektrum ähnlich, nur Spiegelbild und langwellig verschoben. Ursache dieser großen Ähnlichkeit ist die weit-

gehende Übereinstimmung der Schwingungsterme in den S_0- und S_1-Niveaus.

3. Die Fluoreszenzintensität variiert mit der Anregungsfrequenz bei konstanter Lichtintensität der Anregung.

Quantitative Messungen über die Fluoreszenz aromatischer Kohlenwasserstoffe [12] traten in ihrer Zahl zunächst gegenüber den qualitativ theoretischen Aspekten zurück. Die Arbeit von Bowman, Caulfield und Udenfriend [13] lieferte große Impulse für die quantitative Fluoreszenzspektroskopie. Zum erstenmal wurde ein Fluoreszenzspektrometer mit zwei Monochromatoren beschrieben, das die spektrale Zerlegung und Registrierung sowohl für Anregungs- wie auch für Emissionsspektren möglich macht (Abbildung 2-2).

In Verbindung mit leistungsfähigen photoelektrischen Detektoren können auch die Intensitäten empfindlicher und genauer gemessen werden. Seitdem sind zahlreiche aromatische Kohlenwasserstoffe qualitativ und quantitativ untersucht worden.

2.1.2. Aromaten in Gemischen

Die Anwendung der Fluoreszenzanalyse für die Bestimmung polycyclischer Aromaten ist dann besonders einfach, wenn

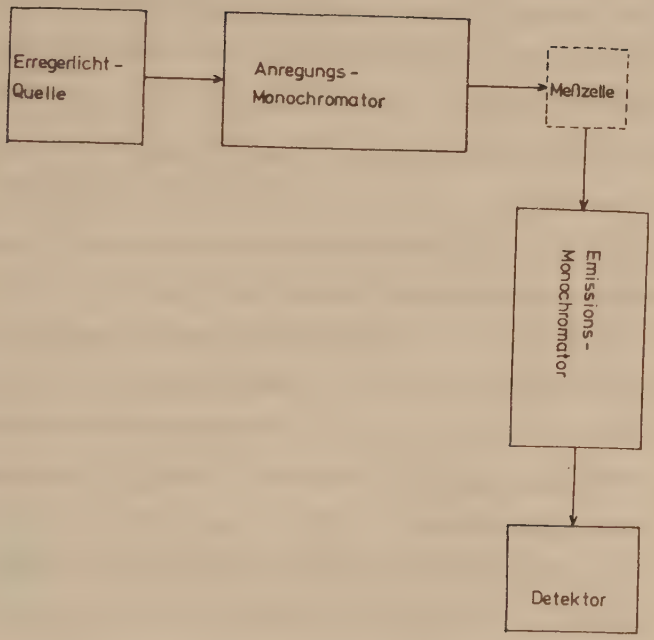


Abbildung 2-2: Schema eines Fluoreszenzspektrometers mit zwei Monochromatoren nach Bowman

der fluoreszierende Stoff hochgereinigt in Lösung vorliegt, wegen der linearen Intensitäts/Konzentrations-Beziehung. Bei Gemischen ist diese Beziehung jedoch kompliziert, da die Linearität durch Überlappung der Fluoreszenzspektren, Löschung, Filter-Effekt usw. von anderen Komponenten gestört wird.

Bei praktischen Aufgaben liegen jedoch alle Aromaten in Gemischen vor, deren Isolierung und Reinigung oft mit erheblichem Trennungsaufwand verbunden ist. Viele dieser Aromaten sind während der Trennung - meist durch Säulen- und Dünnschichtchromatographie - nicht unbegrenzt haltbar und oft zersetzungsanfällig. Die Direktbestimmung dieser Verbindungen wird daher unter Anwendung deren Emissionscharakteristika vorgenommen. Um die Bestimmung zu erleichtern, bedient man sich häufig der Sekektivität des Fluoreszenzverfahrens, die neben der Unterschiedlichkeit der Spektren darauf beruht, daß

1. nur absorbierende Substanzen emittieren können;
2. nicht alle Substanzen, die absorbieren, Fluoreszenz zeigen;
3. beim Überlappen von Absorptionsbanden zweier Komponenten die Fluoreszenz der jeweiligen Extinktion proportional ist, und die Substanzen bei unterschiedlichen Wellenlängen emittieren.

Thommes und Leiniger [14] analysierten ein Dreikompo-

nentengemisch aus Anthracen, Phenanthren und Fluoren. Anthracen kann bestimmt werden durch Anregung bei 366 nm, wo Fluoren und Phenanthren praktisch nicht absorbieren. Phenanthren - angeregt bei 313 nm - emittiert bei 35o nm, wo das mitangeregte Anthracen aber gar nicht fluoresziert. Bei noch kürzerer Wellenlänge kann die Fluoreszenz von Fluoren bei 315 nm ermittelt werden, wo weder Phenanthren noch Anthracen emittieren.

Sawicki et al. [15] gelang es durch dieses Verfahren, Perylen in Gegenwart von 25 anderen polycyclischen Aromaten zu bestimmen, und das chromatographisch schwer zu trennende Gemisch Benzo(a)pyren und Perylen nebeneinander zu analysieren.

Es kommen oft Fälle vor,wo Überlappung sowohl in der Absorption als auch in der Emission vorliegen. Hier sind die selektiven Anregungs/Emissionsmethoden zu modifizieren, um die Analyse zu gewährleisten. Hierzu kann der Einfluß einzelner Aromaten in Lösung eliminiert werden, entweder durch selektive Komplexierung oder durch Verschiebung der Emissionsmaxima. Oft geben Charge-Transfer-Komplexe von den zu bestimmenden Verbindungen eindeutige Fluoreszenzcharakteristika.

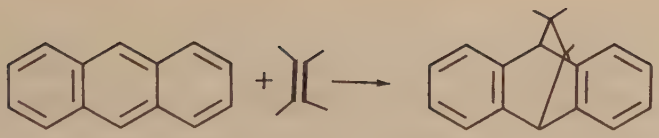
Mataga, Ezumi und Kada [16] analysierten Benzo(a)-pyren in Gemischen durch Charge-Transfer-Komplexierung mit Dimethylanilin. Dabei wirkt Dimethylanilin als

Elektronendonator für den Acceptor Benzo(a)pyren. Mit steigender Zugabe von Dimethylanilin verschwinden langsam die Fluoreszenzmaxima von Benzo(a)pyren, während das Komplexspektrum deutlicher wird, das besser quantitativ ausgewertet werden kann. Andere mehrkernige Aromaten, wie Anthracen, Pyren, Perylen und Fluoranthen, können damit bestimmt werden. Diese Komplexe müssen nicht bereits im Grundzustand existieren, sondern können u.a. erst in angeregtem Zustand entstehen. Den Mechanismus dieser "eximeren" Fluoreszenz [17] beschrieb Förster [18] folgendermaßen:

Monomolekulare Fluoreszenz der Verbindung F

Eximere Fluoreszenz mit Acceptor A

Falls stabile Komplexe schon im Grundzustand existieren, können normale chemische Reaktionen herangezogen werden. So umgingen Schenk und Wirz [19] die Störwirkung von Anthracen bei der Bestimmung von mehrkernigen Aromaten, indem Anthracen durch eine Diels-Alder-Reaktion, z.B. mit Maleinsäureanhydrid als Dienophil, maskiert wird. Das dadurch entstandene Addukt Ib absorbiert bei weit kürzerer Wellenlänge und dementsprechend höherer Anregungsenergie als das Anthracen und emittiert praktisch nicht.



Ia Ib

Dieses Verfahren ist jedoch sehr mühsam und nur selten anwendbar.

Verschiebungen der Fluoreszenzspektren können auch dadurch erreicht werden, daß man die Azidität der Mischungen stark verändert. Sawicki et al. [15] konnten Benzo(a)pyren in Gegenwart von 5o anderen Aromaten durch Verschiebung der Anregungs- und Emissionsspektren von Benzanthracen mit konz. Schwefelsäure nach längeren Wellenlängen bestimmen.

Ähnliche, obwohl physikalisch verschiedene Verfahren beruhen auf der Tatsache, daß die Fluoreszenz einiger Aromaten selektiv gelöscht werden kann. Dieses Prinzip wird z.B. bei der selektiven Löschung der Fluoreszenz durch den "äußeren Schweratom-Effekt" eingesetzt. Die Emission vieler Aromaten wird durch Zusatz jodhaltiger Substanzen, wie z.B. Methyljodid, praktisch vollständig gelöscht, während andere, wie Perylen, unbeeinfluß bleiben [20]. So gelang es Zander, in komplizierten Aromatengemischen kleine Perylenmengen quantitativ zu bestimmen. Das Prinzip

wird jedoch in der Spektrophosphorimetrie häufiger angewendet, da der Effekt der unterschiedlichen Zunahme des Verhältnisses ϕ_p / ϕ_f der Quantenausbeuten von Phosphoreszenz ϕ_p und Fluoreszenz ϕ_f zugrunde liegt [21]. Parker et al. [22] befassen sich mit prinzipiellen Fragen der sensibilisierten verzögerten Fluoreszenz - "sensitised delayed fluorescence" - vor allem im Hinblick auf die analytische Anwendung in Mischungen. Dies resultiert aus Energieübergängen zwischen den Triplettzuständen zweier Moleküle in Lösung nach dem Schema:

$$D \xrightarrow{h\nu} D^* \longrightarrow {}^3D \qquad (1)$$

$${}^3D + A \longrightarrow D + {}^3A \qquad (2)$$

$${}^3D + {}^3A \longrightarrow D + A^* \qquad (3)$$

$${}^3A + {}^3A \longrightarrow A^* + A \qquad (4)$$

$$A^* \longrightarrow A + h\nu' \qquad (5)$$

Das Donor-Molekül D absorbiert Lichtenergie hν und wird in den Singulettzustand angehoben, wo eine Spinumkehr zum Triplettmolekül erfolgt. Das angeregte Triplettmolekül überträgt seine Energie auf das Acceptormolekül A. Es entsteht ein Singulett A* durch eine Triplett-Triplett-Wechselwirkung zwischen ^3D und ^3A oder ^3A und ^3A. Die anschließende Emission von A* entspricht genau dem charakteristischen Fluoreszenzspektrum des Acceptors A. Der Triplett-Triplett-

Übergang wird begünstigt, wenn das Triplettniveau des Acceptors unter dem des Donors liegt. Hiermit ergibt sich die Möglichkeit, eine selektive Sensibilisierung von Mischkomponenten durch Sensibilisatoren mit geeigneten Triplettniveaus vorzunehmen. Eine selektive Sensibilisierung von Benzanthracen, Anthracen, Benzopyren und Perylen wird durch diese Methode mit Proflavinhydrochlorid oder Eosin erreicht. Der Einsatz dieses Verfahrens in der Fluoreszenzspektroskopie ist jedoch sehr begrenzt, da der gleiche Sensibilisator mehrere Verbindungen in Lösung gleichzeitig sensibilisieren kann, deren sensibilisierte Fluoreszenzspektren oft wieder überlappen.

McGlynn et al. [23] sowie Hood und Winefordner benutzen die komplementäre Kombination von Tieftemperatur-Fluoreszenz- und Phosphoreszenzverhalten, um aromatische Carcinogene mit ähnlichen dünnschichtchromatographischen R_f-Werten zu bestimmen. Hier werden folgende Tatsachen zu Hilfe genommen:

1. Die festen Lösungen von Aromaten in n-Paraffinmatrix geben bei tiefen Temperaturen sehr hoch aufgelöste Fluoreszenzspektren, wobei dieser Shpol'skii-Effekt bei verschiedenen Paraffinen und für bestimmte Aromaten unterschiedliche "Quasilinear"-Fluoreszenz aufweist.
2. Die meisten absorbierenden mehrkernigen Aromaten emittieren auch im Bereich der Phosphoreszenz.

3. Nicht nur die Phosphoreszenzspektren sind stoffspezifisch, auch die mittleren Lebensdauern der Phosphoreszenz unterscheiden sich bei den Molekülarten sehr stark.

Die Russische Schule [24] sowie Muel und Lacroix [25] und neuerdings auch Kirkbright und de Lama [26] haben gezeigt, daß sich für bestimmte polycyclische Aromaten deutlich aufgelöste Tieftemperatur-Fluoreszenzspektren in komplexen Gemischen ergeben. Damit sind quantitative Bestimmungen von Perylen, 1,12-Benzperylen und 3,4-Benzopyren in Mineralien gemacht worden. Während die qualitative Anwendung dieser Methode vielversprechend erscheint, ist bei der quantitativen Analyse noch mit großen Fehlern zu rechnen, da Überlappungen nicht völlig ausgeschlossen werden können.

Zum 2. Fall wurde die Phosphorimetrie für analytische Zwecke von Keirs, Britts und Wentworth [27] benutzt, um binäre Mischungen von organischen Verbindungen selektiv zu analysieren. McGlynn et al. [23] beschrieben in ihrer Untersuchung die Anwendbarkeit der "Totalen Lumineszenz" (Fluoreszenz und Phosphoreszenz) für die quantitative Bestimmung der Aromaten von petrochemischem Interesse.

Für den 3. Fall gingen Winefordner et al. [28] davon aus, daß phosphoreszierende Verbindungen unterschiedliche Phosphoreszenzlebensdauer besitzen. Aus der von

Förster [12] entwickelten Formel geht hervor, daß die Phosphoreszenzintensitäten additiv sind:

$$P = \Sigma P_i^o \exp(-t/\tau_i) \qquad (2.1)$$

wobei P_i^o = Phosphoreszenzintensität von Verbindung i in der Zeit t = o ist und τ_i die Abklingzeit der Phosphoreszenz von Substanz i. Für ein Zweikomponentensystem aus A und B ergibt sich die Summe der Phosphoreszenzintensitäten:

$$P = P_A + P_B = \Sigma P_A^o \exp(-t/\tau_A) + \Sigma P_B^o \exp(-t/\tau_B) \qquad (2.2)$$

Damit ist es möglich, durch "Time-Resolved-Phosphorescence" logarithmische Abklingzeitkurven der verschiedenen Komponenten aufzustellen und daraus mit Hilfe von Eichkurven ihre Konzentrationen zu ermitteln. Interessant ist diese Methode insofern, als es das einzige Verfahren von allen obigen Untersuchungen ist, das eine Art "Summierung" der Lumineszenz mit einbezieht. Es liegt jedoch auf der Hand, daß die Notwendigkeit, bei tiefen Temperaturen arbeiten zu müssen, gewisse Erschwernisse mit sich bringt. Außerdem wird eine höhere Konzentration von gelösten Molekülen als bei normaler Fluoreszenz benötigt.

In jüngster Zeit ist von O'Haver und Parks [29] ein neuer Versuch diskutiert worden. Sie bedienen sich eines instrumentellen Tricks - der "Selektiven Modulation" -, in der die Wellenlänge des Anregungsmonochromators innerhalb eines Spektralintervalles $\Delta\lambda$ moduliert wird. Wenn bei richtiger Wahl $\Delta\lambda$ mit der Bandbreite des Maximums einer zu bestimmenden Komponente übereinstimmt, wird in jeder Periode der Anregungsmodulation die Emissionsintensität zweimal moduliert, während für die Komponente, deren $\Delta\lambda$ vom Maximum abweicht, dieses nur zu einem Bruchteil moduliert wird. So gelang ihnen durch diese Frequenzmodulation, die getrennten Fluoreszenzspektren von zwei überlappungsstarken Komponenten zu ermitteln und auszuwerten.

Gegenüber selektiver Anregung hat diese Methode bestimmte Vorteile, da sie vor allem die Blindwerte aus der Fluoreszenzmessung der zweiten Komponente weitgehend reduzieren kann.

Die bisher beschriebenen Verfahren zur Analyse von Aromatengemischen können kaum als Mehrkomponentenanalysen bezeichnet werden, da sie lediglich Einzelanalysen in Gemischen durch selektive Anregung, selektive Emission, selektive Modulation, selektive Löschung und selektive Abklingzeiten, jedoch weniger Simultanbestimmung darstellen.

2.2. Problemstellung

Analytische Methoden aufgrund der überlagerten Fluoreszenzemission von Mischkomponenten sind bisher kaum versucht worden. Daß Mischfluoreszenzspektren für bestimmte natürliche oder synthetische Gemische reproduzierbar sind, ist bewiesen. Etwa Öle aus bestimmten Herkünften weisen charakteristische Fluoreszenzspektren auf [30,31,32]. Diese für die jeweilige komplexe Mischung typische Fluoreszenz resultiert sicherlich aus der Mischfluoreszenz der einzelnen Komponenten.

Es ist nun von Interesse zu wissen, ob für diese Annahme der Additivität der Fluoreszenz zweier oder mehrerer emittierenden Aromaten eine strenge Korrelation zu anteiligen Konzentrationen hergestellt werden kann. Da der große Fortschritt der instrumentellen Analytik einen zunehmenden Einsatz der Automatisierung mit sich bringt, vor allem unter Hinzunahme von Rechnern, würde die Additivität der Emission die Voraussetzung für die Anwendung der Spektrofluorimetrie in der Simultanmehrkomponentenanalyse, analog der Absorption, schaffen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit sollte daher sein, diese Additivität der Fluoreszenz zu prüfen. In diesem Zusammenhang soll durch Mischfluoreszenz untersucht werden, ob und wie die fluoreszenzspektroskopische Bestimmung eines bestimmten Aromaten von verschiedenen

Molekülarten in Mineralölmatrix beeinflußt wird. Dabei soll mit Hilfe der Verdrängungschromatographie, z.B. der Fluoreszenz-Indikator-Analyse ("FIA"), die Bestimmung in die Hauptfraktionen, nämlich Aromaten und Paraffine, vorgenommen werden.

Hinzu kommt die Analyse unter Variierung der Molekülgröße der anwesenden Paraffine. Anhand der sich daraus ergebenden Erkenntnisse soll eine Bestimmung der Aromaten in nicht getrenntem Mineralöl erfolgen. Anschließend wird die Additivität der Fluoreszenz synthetischer Mischungen aus zwei Komponenten mit definierten Aromaten und die gegenseitige Beeinflussung ihrer Fluoreszenz untersucht und ihre Anteile in der Mischfluoreszenz anhand statistischer Rechenmodelle geprüft und diskutiert.

3. Molekülfluoreszenzspektroskopie in Lösung

3.1. Theoretische Grundlagen

Der Molekülluminеszenzprozess ist immer eine Folge der Aktivierung und Desaktivierung der elektronischen Zustände einer Substanz und wird hauptsächlich durch Absorption von Strahlungsquanten eingeleitet. Die Elementarvorgänge können verallgmeinert durch ein Energietermschema dargestellt werden (Abbildung 3-1).

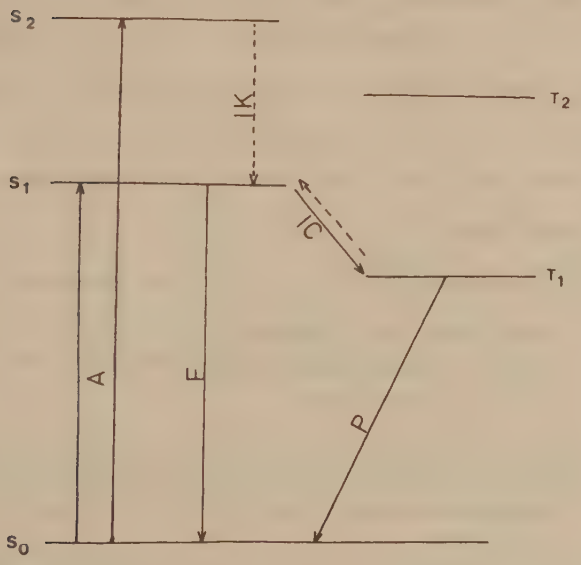


Abbildung 3-1: Termschema der elektronischen Übergänge nach Jablonski
A = Absorption; F = Fluoreszenz;
P = Phosphoreszenz; IK = Internal Conversion; IC = Intersystem Crossing

Durch Absorption von Energie im optischen Spektralbereich wird ein Molekül vom Grundzustand S_0 in die elektronischen Anregungszustände S_1, S_2, usw. angehoben, wobei die gleichzeitige Änderung der Schwingungsquantenzahl gegen den Zeitterm gegenüber dem Anregungszustand durch das Franck-Condon-Prinzip beschrieben wird. Sofort nach Abschluß des Absorptionsvorganges erfolgt eine sehr schnelle strahlungslose Desaktivirung, die das Molekül durch Schwingungsrelaxation in den niedrigsten Schwingungszustand des jeweiligen angeregten Elektronenzustandes S_1, S_2, usw. überführt. Damit wird das Molekül bezüglich der Schwingungsanregung wieder in das thermische Gleichgewicht versetzt. Ausgehend von diesem Zustand sind für den Lumineszenzspektroskopiker drei Schritte *) von besonderem Interesse (Abbildung 3-2):

1. Spontan-Emission von Fluoreszenzstrahlung
2. Strahlungsloser Übergang zwischen den Zuständen (einschließlich "Internal Conversion" und Intersystemübergang)
3. Verlust der Anregungsenergie durch Energieübertragung an Fremdmoleküle (Desensibilisierung, Charge-Transfer, u.a.).

Im Idealfall kehren alle angeregten Moleküle vom S_1-Niveau unter Aussendung von Fluoreszenzlichtquanten

---

*) Die Möglichkeit einer chemischen Reaktion oder einer Photodekomposition wird hier nicht berücksichtigt.

in den Grundzustand zurück. Dieser Schritt ist der entscheidende Prozeß für die Fluoreszenzspektroskopie.

In Wirklichkeit erfolgt jedoch der Übergang einiger Moleküle von S_1 nach S_o ohne Fluoreszenzemission unter Desaktivierung durch die konkurrierenden Prozesse.

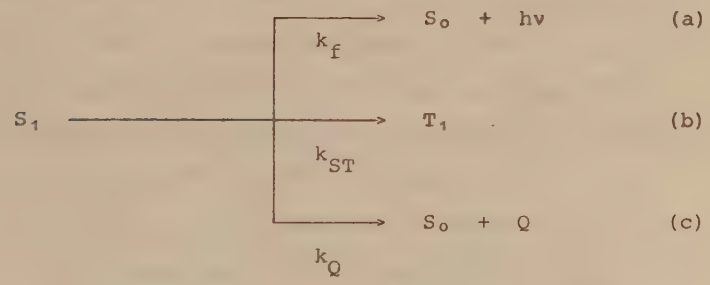


Abbildung 3-2: Schema für die Konkurrenzübergänge aus S_1 mit der Zuordnung der Geschwindigkeitskonstanten k_i; (k_f: Fluoreszenz; k_{ST}: Intersystem-Crossing; k_Q: Löschung durch Fremdmolekül)

Zum Teil wird die überschüssige Energie durch innere Konversion als thermische Energie freigegeben, wodurch die Moleküle strahlungslos in den S_o-Grundzustand gelangen können.

Durch Spinumkehr können auch Übergänge in den Triplettzustand ("Intersystem-Crossing") erfolgen, indem die

Moleküle zunächst in den Triplettzustand T_1 bei einer Schwingungsquantenzahl übergehen, bei der annähernde Übereinstimmung mit dem Term des S_1-Systems besteht. Von hier aus kehren sie unter Phosphoreszenzemission in den Grundzustand zurück.

Diese Art von Emission unterscheidet sich grundsätzlich von der Fluoreszenz durch ihre längere Abklingzeit(etwa 10^{-4} bis 10 s gegenüber 10^{-8} s für Fluoreszenz), bedingt nicht nur durch den $S_1 \rightarrow T_1 \rightarrow S_0$-Umweg, sondern auch durch die relativ lange Lebensdauer des Triplettzustandes aufgrund der Eigenart des "verbotenen Überganges". Während Fluoreszenz nur eine Folge von reinen Singulett-Singulett-Übergängen ist, wird die Phosphoreszenz von einem Triplett-Singulett-Übergang in Verbindung mit "Intersystem-Crossing" gekennzeichnet. Auch wird wegen der langen Lebensdauer der Triplettzustand den Desaktivierungsvorgängen länger ausgesetzt, so daß Phosphoreszenz ein sehr viel lichtschwächerer Vorgang ist, der zudem bei niederen Temperaturen besser als bei höheren Temperaturen zu beobachten ist. Phosphoreszenz tritt wegen der geringeren Energiedifferenz zwischen T_1-Triplett und S_0-Singulettgrundzustand bei noch größeren Wellenlängen als Fluoreszenz auf.

Bei höheren Temperaturen wird zusätzlich der Grundzustand des Triplettsystems durch thermische Schwin-

gungsänderung entvölkert, wobei durch Intersystem-Crossing in umgekehrte Richtung Übergänge in das Singulettsystem erfolgen, die zu einem Fluoreszenzspektrum führen, das qualitativ mit dem der Spontan-Emission übereinstimmt, zeitlich aber verzögert ist.

Im Fall (c) verliert ein angeregtes Molekül seine Anregungsenergie durch Energieübertragung an andere Moleküle[33,34]. Hier ist der Verlust der Fluoreszenzfähigkeit oft eine Folge bimolekularer Prozesse im Gegensatz zu den oben angeführten Vorgängen. Diese Schwächung der Emission kann folgendermaßen zusammengefaßt werden:

1. Das angeregte Molekül D* emittiert wohl die Fluoreszenzstrahlung, aber diese Emission wird von einem zweiten Molekül A absorbiert, wobei die emittierte Strahlung nicht mehr beobachtet wird. Dies tritt besonders dann ein, wenn das Emissionsspektrum von D* und das Absorptionsspektrum von A sich überdecken.
2. Das angeregte Molekül D* kann durch Löschung die Anregungsenergie an ein Nachbarmolekül Q verlieren durch Bildung von Charge-Transfer-Komplexen zwischen D* und Q, wobei Q die gleiche Molekülart oder ein Fremdmolekül sein kann.

3.1.1. Fluoreszenzfähigkeit der Aromaten

Die Energietermverteilung der elektronischen Zustände ist eine substanzspezifische Eigenschaft und hängt von der Art der Molekülorbitale in elektronischem Grund- und Anregungszustand ab sowie von der relativen Anordnung zueinander (Termdifferenzen) und von den Übergangswahrscheinlichkeiten (Oszillatorenstärken). Sie spiegelt sich in den Absorptions- und Fluoreszenzspektren der Moleküle wider. Die Fluoreszenzintensität steht in direkter Beziehung zu der Population des S_1-Terms des Moleküls. Nur die ausreichende Besetzung dieses Terms kann einen genügend intensiven Emissionsübergang $S_1 \longrightarrow S_o$ zur Folge haben.

Von den prinzipiell möglichen Übergängen $\delta \longrightarrow \delta^*$, $\pi \longrightarrow \pi^*$, $n \longrightarrow \pi^*$, haben für die Fluoreszenzspektroskopie nur die beiden letzten praktische Bedeutung, da sie gegenüber den $\delta \longrightarrow \delta^*$-Übergängen so viel energieärmer sind, daß sie durch Anregung im UV-Gebiet oberhalb von 2oo nm und sogar im sichtbaren Bereich erfolgen (Abbildung 3-3).

Je mehr π-Elektronen, d.h., aromatische Ringe an der Konjugation beteiligt sind, desto größer ist die Energiedifferenz zwischen dem Grundzustand S_o und dem angeregten S_1-Zustand. Das bedeutet, daß sich bei zunehmender Anellierung von Benzolringen mehr π-Elek-

tronen in dem aromatischen Ringsystem befinden, deren Übergangswahrscheinlichkeit erhöht wird und somit leichter angeregt werden können. Diese Effekte führen zu Intensitätserhöhung und bathochromer (Rot-) Verschiebung sowohl der Absorptions- als auch der Fluoreszenzspektren. Die intensive Fluoreszenz der mehrkernigen Aromaten hängt mit dieser Erhöhung der Übergangswahrscheinlicht der π-Elektronen zusammen.

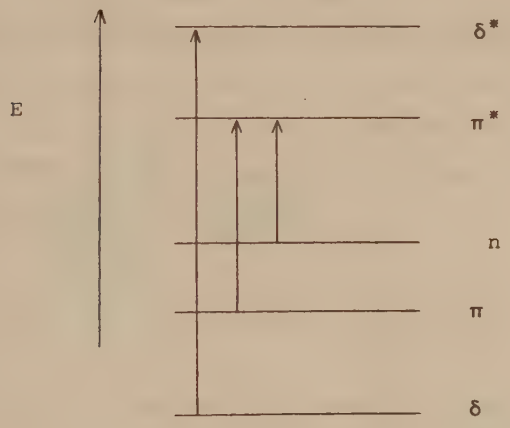


Abbildung 3-3: Relative Energie der Übergänge beim Absorptionsprozeß

Der Anellierungseffekt wird besonders deutlich bei den aromatischen Acenen. Abbildung 3-4 und 3-5 zeigen die-

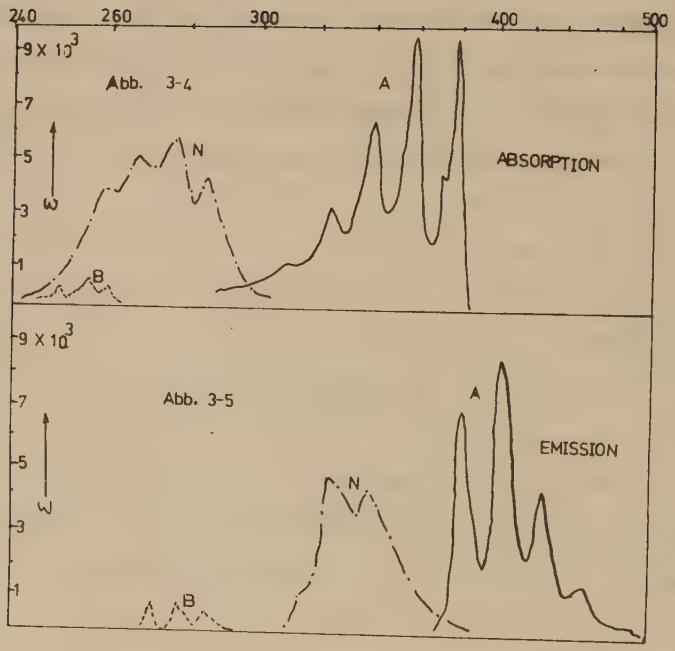


Abbildung 3-4: Absorptionsspektrum von Benzol, Naphthalin und Anthracen

Abbildung 3-5: Emissionspektrum von Benzol, Naphthalin und Anthracen

sen Einfluß in den Absorptions- und Fluoreszenzspektren beim Übergang von Benzol zu Naphthalin sowie zu Anthracen. Die Absorption und die Emission werden längerwellig und auch intensiver mit zunehmender Zahl der Aromatenkerne.

3.2. Analytische Aspekte

Wie viele Fluoreszenzlichtquanten in der Zeiteinheit emittiert werden hängt von der Kinetik der in Abbildung 3-2 gekennzeichneten konkurrierenden Übergänge ab. Daraus kann die Fluoreszenzemissionsintensität durch die Geschwindigkeitskonstante der beteiligten Übergänge beschrieben werden:

$$I_F \; \Phi_f \sim \; - d[S_1] / dt = k_f [S_1]$$

D.h., die Intensität ist proportional der Zahl der Übergänge in der Zeiteinheit, und die Reaktionsgeschwindigkeit wird ihrerseits durch das Geschwindigkeitsgesetz der 1. Ordnung beschrieben.

Die Quantenausbeute Φ_f der Spontan-Fluoreszenz ist das Verhältnis des Anteiles der angeregten Moleküle, die auf diesem Weg in den S_0-Zustand zurückkehren zur Summe aller Desaktivierungsvorgänge.

$$\Phi_f = \frac{k_f . S_1}{\Sigma k_i . S_1} = \frac{k_f}{k_f + k_{ST} + k_Q} = \frac{k_f}{k_G} \quad (3.2)$$

Anders ausgedrückt, da k_G gleich der Besetzungsgeschwindigkeitskonstante und daher proportional der Absorptionsgeschwindigkeit ist, wird Gleichung 3.2:

$$\Phi_f = \frac{\text{Zahl der emittierten Quanten}}{\text{Zahl der absorbierten Quanten}} \quad (3.3)$$

Kehren alle angeregten Moleküle einer Substanz von S_1 durch Prozeß (a) zum Grundzustand zurück, so ist die Fluoreszenzausbeute $\Phi_f = 1$, beim Ausbleiben der Fluoreszenz wird Φ_f gleich Null.

3.2.1. Qualitative Anwendung

Die Fluoreszenzausbeute Φ_f definiert praktisch die Fluoreszenzfähigkeit eines absorbierenden Molekülsystems. Als Folge der damit verbundenen Übergänge ergeben sich folgende analytische Charakteristika:

1. Das Spektrum der Fluoreszenz ist unabhängig von der Anregungsenergie bzw. Anregungswellenlänge, da alle Fluoreszenzübergänge aus demselben Ausgangszustand, nämlich dem S_1-Schwingungsgrundniveau erfolgen.

2. Da für die Emission wieder das Franck-Condon-Prinzip gilt, wonach diese je nach der Potentialfunktion in einem bestimmten Schwingungszustand der Anregung endet, haben Absorptions- und Fluoreszenzbanden häufig nahezu einen spiegelbildlichen Verlauf, wobei die Fluoreszenzspektren eine Verschiebung nach längeren Wellenlängen (Stokessche Verschiebung, Abbildung 3-6a und 3-6b) erfahren.

3. Nach Gleichung (3.3) ist die Zahl der Fluoreszenzübergänge $\underline{F}$ einer Substanz das Produkt aus der Zahl der absorbierten Quanten $\underline{A}$ und der Fluoreszenzausbeute Φ_f. Nach dem Lambert-Beerschen Gesetz ist die Absorption einer Substanz mit der Konzentration c und der Schichtdicke d gegeben durch:

$$\underline{A} = I_o - I = I_o(1-e^{-\varepsilon cd}) \qquad (3.4)$$

wobei I_o der eingestrahlte Strahlungsfluß, I der durchgelassene und ε der molare Extinktionskoeffizient ist.

$$\underline{F}_o = \underline{A} \cdot \Phi_f = I_o(1 - e^{-\varepsilon cd})\ \Phi_f \qquad (3.5)$$

Damit ist die Fluoreszenzintensität dem eingestrahlten Licht direkt proportional.Die experimentell bestimmte Intensität wird naturgemäß durch die räumliche Anordnung bestimmt, da die Fluoreszenz ein in den vollen Raumwinkel gehender Volumenstrahl ist, von dem ein mehr oder weniger großer Sektor durch die Beobachtung tatsächlich erfaßt wird.Außerdem besteht auch bei

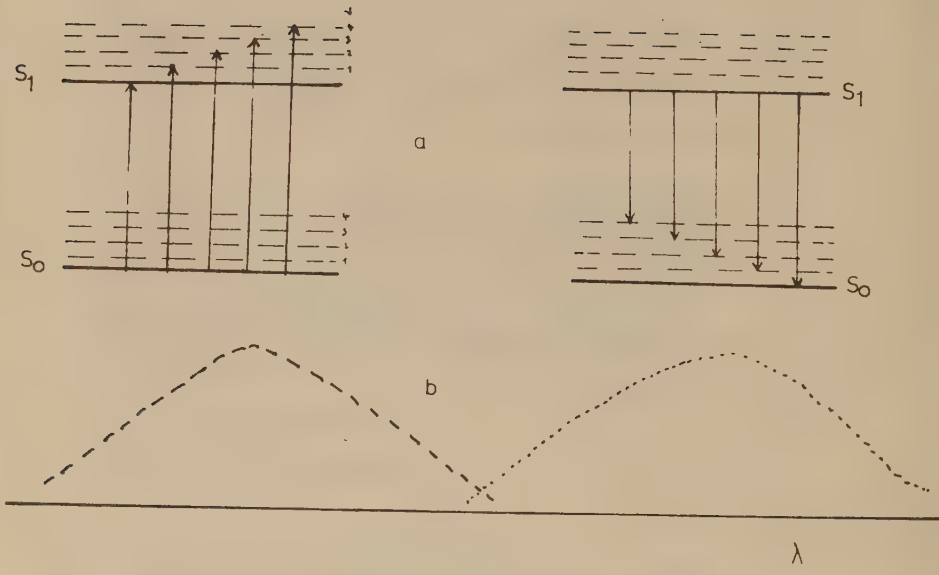


Abbildung 3-6a und 3-6b: Schema der Stokesschen Verschiebung des Fluoreszenzspektrums der Aromaten

konstanter Lichtintensität eine Abhängigkeit von der Extinktion, mit der die Anregungsenergie I_o in der Probe absorbiert wird. So kann eine fluoreszierende Verbindung durch zwei Fluoreszenzspektren

- Emissionsspektrum, das die Intensitätsabhängigkeit der Fluoreszenz mit der Wellenlänge angibt und
- Fluoreszenzspektrum, das die Fluoreszenzintensität in Abhängigkeit von der Anregungswellenlänge darstellt

charakterisiert werden. Durch Auswahl der Anregungswellenlänge, gegeben durch die ε-Werte, ist die selektive Anregung und Erkennung der emittierenden Substanz gewährleistet.

3.2.2. Quantitative Beziehung

Durch Entwicklung von Gleichung (3.5) ergibt sich

$$\underline{F} = I_o \Phi_f \left[\varepsilon cd - \frac{(\varepsilon cd)^2}{2!} + \frac{(\varepsilon cd)^3}{3!} - \ldots \right] \quad (3.6a)$$

$$= I_o \Phi_f \, \varepsilon cd \left[1 - \frac{\varepsilon cd}{2} + \frac{(\varepsilon cd)^2}{6} - \ldots \right] \quad (3.6b)$$

Bei kleiner Absorption, d.h., kleiner optischer Dichte εcd, wird hieraus näherungsweise

$$\underline{F} = g\, I_o\, \phi_f\, \varepsilon\, c\, d \qquad (g = \text{Gerätekonstante}) \quad (3.7)$$

Damit ergibt sich eine Proportionalitätsbeziehung zwischen Fluoreszenzemission und der Konzentration bei konstanter Anregungswellenlänge, wenn man eine Reabsorption der Fluoreszenzstrahlung durch die partielle Überlappung von Fluoreszenz- und Absorptionsspektren zunächst außer Betracht läßt.

Aus den Gleichungen (3.6) und (3.7) können für praktische Zwecke die Bedingungen für die Linearität der Beziehung von $\underline{F}$ und der Konzentration c abgeleitet werden. Für gegebene Schichtdicke kann Gleichung (3.6) nur dann linear sein, wenn das Produkt aus ε und Konzentration klein ist. Gäbe es etwa 5 % oder weniger Absorption des Systems, so ist aus Gleichung (3.6b)

$$\frac{\varepsilon\, c\, d}{2} < o{,}o25.$$

Da die höheren Terme den Fehler verringern, kann die Näherung (3.7) nicht mehr als 2,5 % Fehler verursachen. Tabelle 3.1 gibt Daten für eine Reihe verschiedener Extinktionen. Bei höherer Absorption, z.B. 25 % ist die Abweichung nicht mehr zu vernachlässigen und Gleichung (3.6) ergibt bei Berücksichtigung wenigstens des zweiten Gliedes

Optische Dichte ε c d	$\underline{F}$ Gl.(3.7)	$\underline{F}$ Gl.(3.6)	$\underline{F}$ (%)
o,o1	o,o23	o,o227	1,16
o,o2	o,o46	o,o449	2,3
o,o5	o,115	o,1o81	5,9
o,1o	o,23	o,2o15	12,38
1,2	2,76	-1,9248	-69,74

Tabelle 3.1: Fehler in der Fluoreszenzintensität durch höhere optische Dichte

$$\underline{F} = I_o \Phi_f \varepsilon c d \left[1 - \frac{\varepsilon c d}{2} \right] \qquad (3.8)$$

Dabei entsteht eine nichtlineare Beziehung, die bei praktischen Bestimmungen unbequem ist, denn nur im Bereich der Linearität läßt sich die Eichfunktion $\underline{F} = f(c)$ in die Analysenfunktion $c(F) = f^{-1}(\underline{F})$ ohne besonderen Aufwand umkehren. Hierbei kann anhand obiger Überlegungen bei einem gegebenen System die obere Grenzkonzentration festgestellt werden, wenn man maximal eine 5%-ige Absorption annimmt. Die maximale Konzentration c_{max} hierfür wird:

$$c_{max} = \frac{o,o5}{\varepsilon d} \qquad (3.9)$$

Die Nachweisgrenze läßt sich in Verbindung mit der

Reproduzierbarkeit, d.h., dem Signal/Rausch-Verhältnis des Gerätes, ableiten [35,36,37]. Für die Änderung der Fluoreszenzintensität mit der Konzentration ist die Empfindlichkeit gegeben durch

$$\frac{d\underline{F}}{dc} = \Phi_f I_o \varepsilon d \qquad (3.1o)$$

Wenn oberhalb der Nachweisgrenze (3δ F_{blind}) $\underline{F}_{min}$ das kleinste meßbare Fluoreszenzsignal ist und c_{min} die dazugehörige Probenkonzentration, so ergibt sich

$$c_{min} = \frac{\underline{F}_{min}}{\Phi_f I_o \varepsilon d} \qquad (3.11)$$

Der Arbeitsbereich kann nach Gleichung (3.9) und (3.11) ungefähr wie folgt geschätzt werden:

$$c_{max} - c_{min} = \frac{o,o5}{\varepsilon d} - \frac{\underline{F}_{min}}{\Phi_f I_o \varepsilon d}$$

$$= \frac{1}{\varepsilon d}\left[o,o5 - \frac{\underline{F}_{min}}{\Phi_f I_o} \right] \qquad (3.12)$$

In dem Ausdruck für c_{min} stecken die beiden Definitionen der Fluoreszenzempfindlichkeit nach Parker und Rees [38], da einerseits für ein bestimmtes Gerät $\underline{F}_{min}$

die Gerätekonstante und damit auch die Empfindlichkeit des Gerätes beinhaltet und andererseits die Eigenempfindlichkeit der Probensubstanz in den substanzcharakteristischen Größen Φ_f beschrieben ist. Abbildung 3-7 und 3-8 zeigen die Darstellungen von log F gegen log c von Anthracen und Perylen.

Wesentliche Bedeutung in der obigen Betrachtung kommt dem Term I_o zu. Die Erhöhung der Anregungsintensität I_o in den Beziehungen (3.1o), (3.11) und (3.12) bedeutet eine Erhöhung der Empfindlichkeit und zugleich auch die Ausdehnung des Arbeitsbereiches nach unten. Dabei ist es möglich, I_o bis zur Grenze der photochemischen Belastbarkeit der Probensubstanz beliebig zu erhöhen. Mit größeren Absorptionskoeffizienten läßt sich zwar höhere Empfindlichkeit erzielen, man verkürzt jedoch den Linearitätsbereich.

3.3. Gegenüberstellung von Absorptions- und Fluoreszenzmethoden

Nicht selten stellt sich die Frage, welches Verfahren, Fluoreszenz oder UV-Absorption, bei einer analytischen Aufgabe am besten geeignet ist. Die Vorteile der Fluoreszenzspektroskopie gegenüber der Absorptionsphoto-

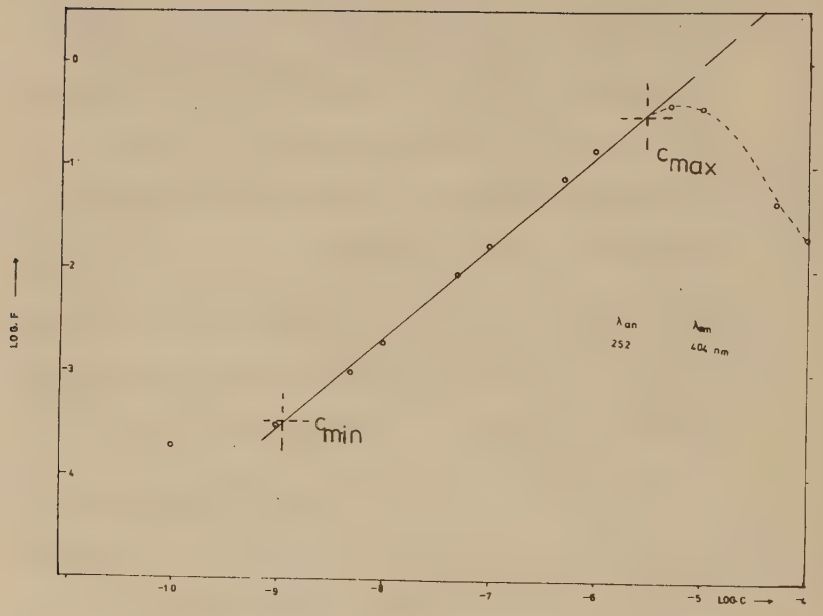


Abbildung 3-7: Linearitätsbereich der Fluoreszenzintensitäts/Konzentrations-Beziehung von Anthracen

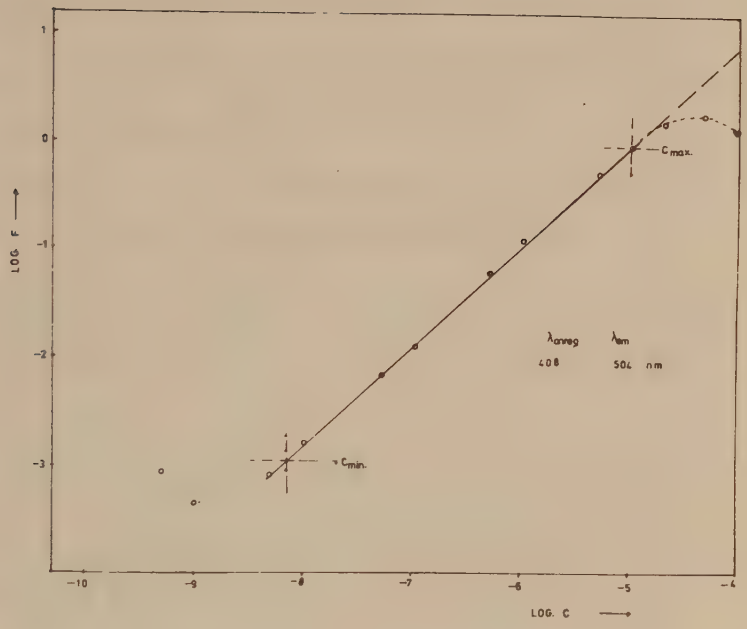


Abbildung 3-8: Linearitätsbereich der Fluoreszenzintensitäts/Konzentrations-Beziehung von Perylen

metrie liegen vor allem in den für Analytiker wichtigen drei Themenkreisen, nämlich Empfindlichkeit, Spezifität und Selektivität.

Aus Gleichung (3.1o) ist die Empfindlichkeit dF/dc direkt der Anregungsintensität I_o proportional und läßt die Bestimmung von noch extrem kleinen Konzentrationen mittels hoher Anregungsintensitäten erzielen. Hier macht man sich die Tatsache zunutze, daß beim Fluoreszenzemissionsverfahren der Konzentration Null für die Emission eine Signalgröße Null zugeordnet ist. Bei Absorptionsverfahren kann dagegen prinzipiell nur die Differenz oder der Quotient zweier Intensitäten (I_o, I) analytisch genutzt werden. Wenn sowohl I_o als auch I groß sind, wird bei kleinen Konzentrationen und damit kleiner Absorption I sehr klein und gerät rasch in die Näher der Schwankungsbreite δ_I. Dieser Unterschied läßt sich verdeutlichen durch Abschätzen der Nachweisgrenze c_{min} einer Probensubstanz, z.B. Anthracen mit etwa $\varepsilon_{max} = 8 \cdot 10^3$ l.mol^{-1}.cm^{-1} bei der Anregung mit λ = 36o nm. Die noch meßbare Extinktion ist bei gängigen Geräten der Absorptionsphotometrie etwa o,oo1. Damit errechnet sich das zugehörige c_{min} in einer 1-cm-Küvette

$$c_{min} = \frac{10^{-3}}{8 \cdot 10^3} \approx 10^{-7} \text{ mol/l}$$

Dagegen erhält man für Anthracen bei der Fluoreszenzmessung beispeilsweise mit einem Photomultiplier (IP 21) ein Signal/Rausch-Verhältnis von 10 Quanten/s, und eine Bestrahlung von 10 Quanten/s, Φ_f = o,3o,

$$c_{min} = \frac{10^4}{o,3 \cdot 10^{13} \cdot 8 \cdot 10^3} \approx 10^{-12} \text{ mol/l}$$

und liegt somit um mindestens vier Zehnerpotenzen besser als bei dem Absorptionsverfahren.

Die Fluoreszenzspektroskopie kann durch Wahl geeigneter Bedingungen ein höheres Maß an Spezifität erreicht werden. In einem komplexen Gemisch ist es möglich, für eine einzige Komponente durch geeignete Wahl der Anregungswellenlänge nur deren Fluoreszenzspektrum zu erhalten und die Bestimmung zu gewährleisten. Ein erwähnenswertes Beispiel dieser Spezifität ist die Bestimmung des Perylens in einem Gemisch von über 25 aromatischen Komponenten von Sawicki et al.[15]. Dies ist so gut wie unmöglich bei der Absorptionsphotometrie so eng verwandter Substanzklassen. Auch bei der Wellenlänge des Fluoreszenzmaximums der zu bestimmenden Komponente kann das Anregungsspektrum registriert werden. Da ferner das Anregungsspektrum dem Absorptionsspektrum entspricht, gelingt es oft,

das Absorptionsspektrum so kleiner Mengen einer fluoreszierenden Substanz indirekt zu erhalten, die für die Absorptionsspektrometrie noch unmeßbar sind.

Die Frage der größeren Selektivität der Fluoreszenz gegenüber der Spektrophotometrie hängt einmal zusammen mit der Tatsache, daß nur absorbierende Substanzen emittieren können. Daneben bietet die Fluoreszenzspektrometrie den Vorteil, daß man zwei Variable - die Fluoreszenzemissions- und die Fluoreszenzanregungswellenlänge - zur Verfügung hat. Dadurch bietet sich die Möglichkeit, die selektive Analyse mehrerer Komponenten in einem Gemisch leichter durchzuführen als mit der Absorptionsspektrophotometrie. Außerdem gibt es noch weitere analytisch anwendbare Parameter bei der Fluoreszenz, wie die Abklingzeiten der Emission und die Temperaturabhängigkeit.

Nicht zu verkennen sind jedoch die Schwächen der Emissionsspektroskopie. Die hohe Empfindlichkeit führt auch zur Anfälligkeit gegenüber Verunreinigungen und stellt damit große Anforderungen an Reinheit der zu messenden Probe und der Lösungsmittel, insbesondere in den Niedrigkonzentrationsbereichen. Störfaktoren (siehe Abschnitt 4.2), wie z.B. Löscheffekte, Reabsorption, Intensitäts- und Temperaturschwankungen, sind Ursachen, die die Fluoreszenzbestimmung mühsamer als die UV-Absorption machen.

Für die quantitativen Bestimmungen wichtig ist die Tatsache, daß die Absorption für größere Konzentrationsbereiche additiv (Extinktion $E = \varepsilon\, c\, d$) ist, was bei der Fluoreszenzemission nicht ohne weiteres gelten kann.

4. Einflußfaktoren bei der Fluoreszenzbestimmung von Aromaten

Eine Reihe von Störelementen beeinflussen die Fluoreszenz einer gelösten Komponente und können bei der Analyse der Aromaten von großer Bedeutung sein. Bei der Analyse von Verbindungen durch Fluoreszenzmessung gilt es, diese Einflüsse

a. auszuschalten oder zu vermindern
b. konstant zu halten oder
c. quantitativ zu erfassen und bei der rechnerischen Auswertung zu berücksichtigen.

Dies ist nur möglich, wenn der Verlauf jeglicher Beeinflussung festgestellt werden kann. Im folgenden werden die verschiedenen Faktoren in zwei Gruppen behandelt:

1. Lösungen einzelner reiner Aromaten in einheitlichem Lösungsmittel
2. Lösungen von Aromaten neben Fremdmolekülen

4.1. Lösungen reiner Aromaten

Die Fluoreszenz reiner Substanzen in einem Lösungsmittel ist von folgenden Faktoren abhängig:

chemische und physikalische Eigenschaften des Lösungsmittels

Temperatur

Konzentration

4.1.1. Einfluß des Lösungsmittels

Wie bei der Absorption unterliegt die Fluoreszenz eines Moleküls dem Einfluß des umgebenden Mediums. Der Effekt des Lösungsmittels manifestiert sich vor allem durch Verschiebung der Fluoreszenzbanden und zum Teil auch durch Verminderung der Quantenausbeute einer fluoreszierenden Substanz. Die Solvatochromie[39] bei der Absorption wird dadurch erklärt, daß die Anregung eines Moleküls zu einer Ladungsverschiebung führt, die in Wechselwirkung mit den elektrischen Kräften der Umgebung steht. Wie groß die Ladungsverschiebung ist, wird durch das Dipolmoment des gelösten Moleküls bestimmt, während die Auswirkung des umgebenden Feldes von der Dielektrizitätskonstanten und der Polarität des Lösungsmittels abhängt. Dieselbe Wirkung des Lösungsmittels gilt auch für die Fluoreszenz. Die meisten Moleküle sind im angeregten Zustand polarer als im Grundzustand. Lippert[40] sowie Birks[41] und Van Duuren[42] zeigten, daß die dipolare Wechsel-

wirkung zwischen emittierenden Molekülen und Lösungsmittelkäfig bei Zunahme der Polarität und der Dielektrizitätskonstanten des Lösungsmittels stärker wird und zu einer von Lippert beschriebenen anomalen Stokesschen Verschiebung der Fluoreszenzbanden führt. Die oft von der Absorption abweichenden Lösungsmitteleffekte der Fluoreszenzspektren beruhen auf der unterschiedlichen Orientierung des Emitters im Grundzustand und im angeregten Zustand. Dieses Phänomen wird in Abbildung 4-1 schematisch dargestellt. Nach Aufnahme eines

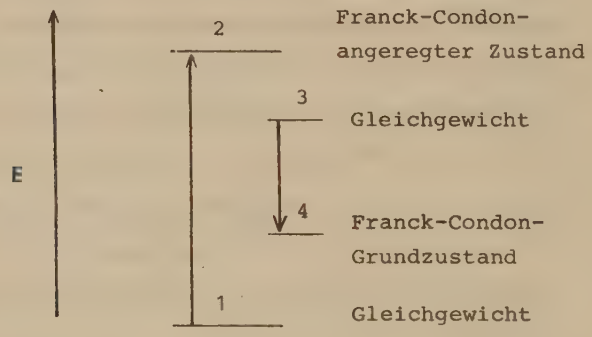


Abbildung 4-1: Schematische Darstellung der Anregungszustände in Lösungmitteln

Photons erreicht das Molekül zunächst den Franck-Condon-angeregten Zustand 2, wobei die Molekülgeometrie im Lösungsmittelkäfig noch die dem Grundzustand charakteristische Konfiguration besitzt. Solvensorientierung

bringt das Molekül in das angeregte Zustandsgleichgewicht 3 entsprechend der neuen Molekülladungsverteilung. Emission erfolgt aus 3 in den Franck-Condon-Grundzustand 4 mit anschließender Lösungsmittelrelaxation.

Ein Beispiel unterschiedlicher Effekte eines Lösungsmittels auf zwei Aromaten wird in Abschnitt 5 gezeigt.

Im Emitter-Lösungsmittel-System, wo die Möglichkeit einer Protonierung oder Wasserstoff-Brückenbindung besteht, kann die Fluoreszenz von der Azidität des Mediums abhängig sein. Auch die Viskosität des Lösungsmittels hemmt die Löschwirkung und begünstigt damit die Fluoreszenz. Bei der Analyse von Aromaten können durch Benutzung von inerten Lösungsmitteln die obigen Effekte weitgehend reduziert oder beseitigt werden. Insbesondere bleiben die Lösungsmitteleffekte gleich, wenn - wie bei allen folgenden Messungen geschehen - in einheitlichen Lösungsmitteln und bei hoher Verdünnung gearbeitet wird. In dieser Arbeit wurde hauptsächlich Benzol und zum Teil auch Cyclohexan benutzt.

4.1.2. Einfluß der Temperatur

Für viele Moleküle bedeutet eine Erhöhung der Temperatur eine Abnahme der Fluoreszenzquantenausbeute. Dieser Effekt wird nicht nur durch die erhöhte molekulare Bewegung bei höherer Temperatur und den damit

verbundenen Verlust der Anregungsenergie, sondern vielmehr durch die Temperaturabhängigkeit des "Intersystem-Crossing" begründet. Die Beobachtungen von Lim, Laposa und YU[43] bei substituierten Anthracenen weisen auf den Temepratureinfluß auf das $S_1 \longrightarrow T_1$-Intersystem-Crossing hin. Der Temperatureffekt wird noch größer in Gegenwart von Löschsubstanzen, da die Stöße zwischen angeregten fluoreszenz-potenten Molekülen häufiger werden. Unter Umständen kann bei Molekülen, wo der Energieunterschied zwischen S_1 und T_1 klein ist, bei höheren Temperaturen ein $T_1 \longrightarrow S_1$ -Übergang erfolgen, woraus eine verzögerte Hochtemperatur-Fluoreszenz resultiert.

Für die hier vorgelegte Arbeit ist die Temperaturabhängigkeit der Fluoreszenz ohne praktische Bedeutung, da die Untersuchungen alle bei gleicher Temperatur (2o °C) in einem klimatisierten Raum vorgenommen wurden. Messungen auch über längere Zeiträume zeigten keine bemerkbaren temperaturbedingten Schwankungen.

4.1.3. Einfluß der Konzentration

Wie in Abschnitt 3 gezeigt wurde, besteht bei niedrigen Konzentrationen eine lineare Beziehung zwischen der Fluoreszenzintensität und der Konzentration des

Emitters. Tabelle 3.1 zeigt bereits, daß bei höherer Konzentration, d.h., höherer Extinktion, diese Beziehung nicht mehr linear ist. Dieser Konzentrationseinfluß auf die Linearitätsbeziehung liegt nicht an einer Fälschung der Messung selbst, sondern beruht auf der exponentiellen Beziehung der Absorption zu Konzentration und optischer Dichte nach dem Lambert-Beerschen Gesetz. Schwieriger erfaßbar jedoch sind die weiteren Auswirkungen der Konzentration aufgrund des "Inneren Filter-Effektes" und der Konzentrationslöschung.

Der "Innere Filter-Effekt" wirkt sich bei höheren Konzentrationen in zwei Formen aus: Einmal wird durch hohe Absorption bei der Anregungswellenlänge die pro Längenelement absorbierte Anregungsstrahlung sehr stark von der Einstrahlungsintensität abhängig, unter Umständen erfolgt bereits vollständige Absorption in der Nähe der Eintrittsstelle der Strahlung. Je nach der Geometrie der experimentellen Anordnung (0°, 90°, 180°) wird dadurch ein unterschiedlicher Emissionsanteil erfaßt und eine komplizierte Konzentrationsabhängigkeit der Fluoreszenz bewirkt.

Zum zweiten können unter Umständen die emittierten Photonen entlang ihrer Austrittswege reabsorbiert werden. Diese Reabsorption wirkt sich besonders aus in den Wellenlängenbereichen, wo noch eine Überlappung zwischen dem langwelligen Absorptionsteil und

den Fluoreszenzspektren besteht. Sie kann verringert werden, indem in längerwelligen Fluoreszenzbereichen gearbeitet wird. Eine weitere Intensitätsabnahme kann erfolgen, wenn die Konzentration der angeregten Moleküle durch Wechselwirkung mit anderen Molekülen verändert wird. Solche Wechselwirkungen können z.B. durch Stöße mit Molekülen im Grundzustand unter Verlust der Anregungsenergie erfolgen, oder es bilden sich ohne Energieabgabe relativ stabile angeregte Dimere mit den Grundzustand-Molekülen. Diese Dimere können manchmal eine eigene Fluoreszenz aufweisen, die sich völlig von der der ursprünglichen Substanz unterscheidet. Prozesse dieser Art führen ebenfalls zur Löschung der Emission des Emitters.

4.1.3.1. Löscheffekte

Die genauen mechanistischen Vorgänge bei der Fluoreszenzlöschung eines angeregten Moleküls M* durch ein Grundzustand-Molekül Q bleiben noch Gegenstand intensiver Untersuchungen. In jüngster Zeit ist der von Förster für die Eximerenbildung postulierte Mechanismus durch die Ansätze von Weller, Evans und Hammond erweitert worden.

Nach Weller[49] sind die Exiplex-Komponenten unter-

schiedlich geladen und weitgehend ionisiert:

$$M^* + Q \rightleftharpoons (M^-Q^+)^* \text{ bzw. } (M^+Q^-)^*$$

$$(M^-Q^+)^* \xrightarrow{-h\nu} M^-Q^+ \longrightarrow M + Q$$

Evans[50] Mechanismus resultiert aus Stößen, wobei elektronische Wechselwirkung nur wenig zu der Komplexbildung beiträgt. Der Stoßkomplex existiert erst gar nicht in angeregtem Zustand:

$$M^* + Q \rightleftharpoons (M^*\cdot Q) \longrightarrow M + Q$$

Während in den Darstellungen sowohl von Weller als auch von Evans Charge-Transfer dominierend ist, sind die gebildeten Zwischenkomplexe in unterschiedlichen Zuständen. Hammonds[51] Vorstellung unterscheidet sich vor allem in der Ladungsverteilung der Eximeren auf Resonanzzustände:

$$M^* + Q \rightleftharpoons (M\cdot Q)^* \longrightarrow M + Q$$

$$(M\cdot Q)^* \equiv M^*\cdot Q \longleftrightarrow M\cdot Q^* \longleftrightarrow M^+Q^- \longleftrightarrow M^-Q^+$$

Für jeden dieser Mechanismen lassen sich je nach der Natur von M und Q Beispiele finden. In dem Hammondschen

Vorschlag verbirgt sich anscheinend eine umfassendere Beschreibung der Zustände.

Q kann in den obigen Fällen auch die gleiche Molekülart wie M im Grundzustand sein. Dies führt in diesem Fall zu einer Konzentrations- und Selbstlöschung von M*. Höhere Konzentrationen erhöhen diese Möglichkeit.

Das Verhältnis der beobachteten und erwarteten Intensitäten ist in Abbildung 4-2 und 4-3 dargestellt und demonstriert die Selbstlöschung von Anthracen. Dabei geben die Abbildungen 4-2 und 4-3 die Beobachtung bei 4o4 nm für unterschiedliche Extinktionskoeffizienten und Anregungswellenlängen wieder. Abbildung 4-2 und 4-2 a zeigen die Messungen bei hohen Extinktionskoeffizienten ($\varepsilon > 1o^5$), während Abbildung 4-3 die Verhältnisse für etwa 15-fach kleinere Extinktionskoeffizienten zeigt. Das intensive Abknicken der Intensitäten beginnt im 1. Fall bei $1o^{-5}$-M, während bei niederen Extinktionen noch Konzentrationen von $1o^{-4}$-M erfaßbar sind. Dies legt die Vermutung nahe, daß es sich in der Tat nicht um einen konzentrationsabhängigen Löscheffekt handelt, sondern um die Abnahme der bei 9o° gemessenen Intensität aufgrund der zunehmenden Extinktion der bestrahlten Schicht. Dies wird bestätigt durch die Zusammenfassung der Daten der Abbildungen 4-2 und 4-3 in dem Diagramm 4-4, wo als Abszissenmaßstab das Pro-

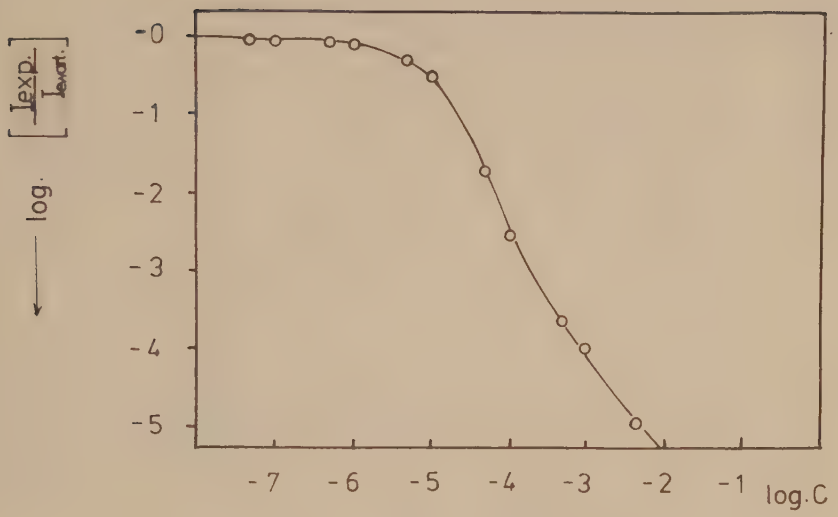


Abbildung 4-2a: Verhältnis der beobachteten und erwarteten Fluoreszenzintensitäten für Anthracen in Cyclohexan

Anregung: 246 nm
Emission: 4o4 nm

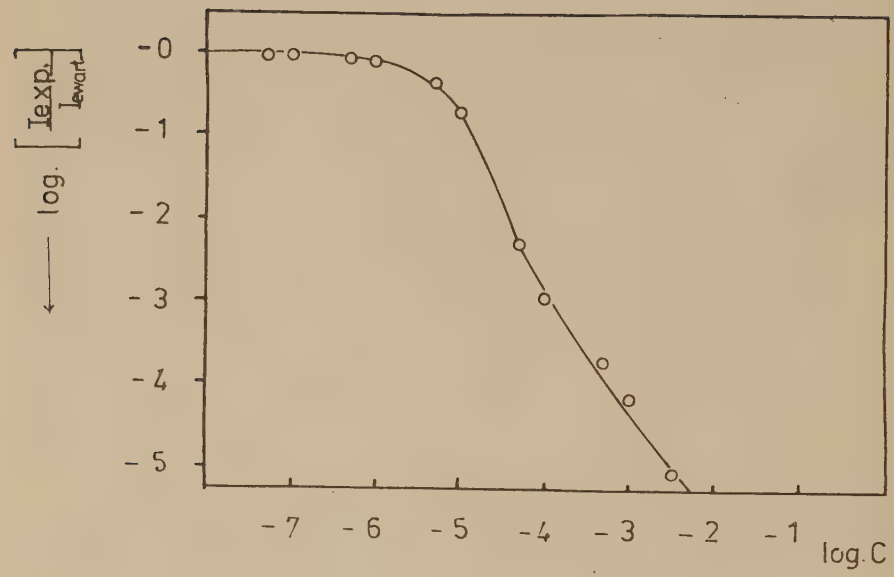


Abbildung 4-2b: Verhältnis der beobachteten und erwarteten Fluoreszenzintensitäten für Anthracen in Cyclohexan

Anregung: 252 nm
Emission: 4o4 nm

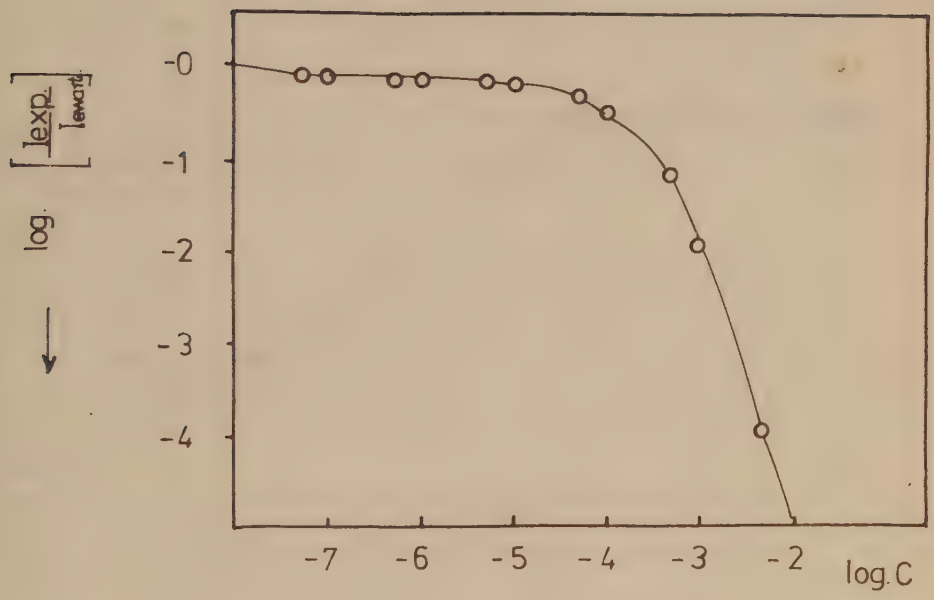


Abbildung 4-3: Verhältnis der beobachteten und erwarteten Fluoreszenzintensitäten für Anthracen in Cyclohexan

Anregung: 374 nm
Emission: 4o4 nm

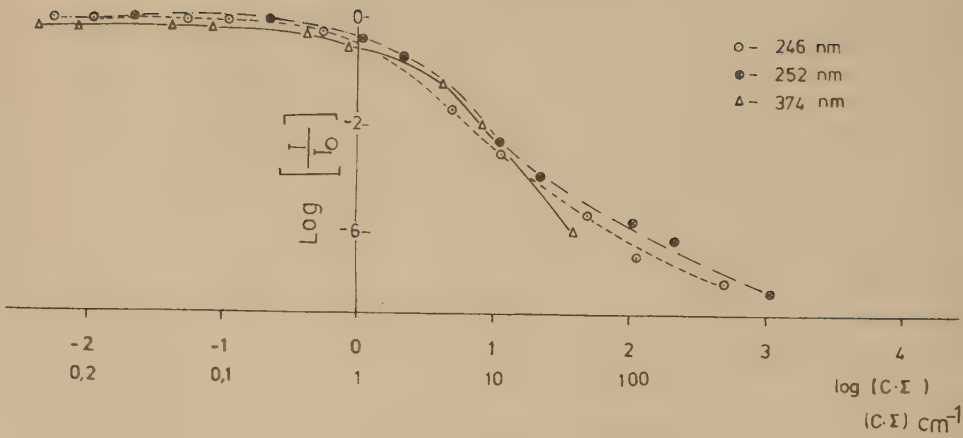


Abbildung 4-4: Zusammenfassung der Daten aus den Abbildungen 4-2a, 4-2b und 4-3 mit εc (cm^{-1}) als Abszissenmaßstab

dukt $\varepsilon \cdot c$ (cm^{-1}) gewählt wird. Unabhängig von der Anregung λ fallen alle Kurven und insbesondere ihr Knickpunkt weitgehend zusammen. Die Abweichungen der hohen Absorption ($\varepsilon \cdot c > 10^{-1}$) können in diesem Zusammenhang nicht mehr als reell interpretiert werden, da die relative Intensität nur noch weniger als o,1 % der erwarteten Intensität beträgt und die Standardabweichung des Verfahrens naturgemäß stärker durchschlägt. Im Anhang ist das Gleiche für Perylen dargestellt.

Hieraus zeigt sich, daß in allen Fällen, sowohl für Anthracen als auch für Perylen, die Selbstlöschung vernachlässigbar klein ist und eine weitgehende Konstanz der Quantenausbeute angenommen wird.

4.1.4. Einfluß des Luftsauerstoffes

Luftsauerstoff kann die Fluoreszenz von Aromaten löschen. Sauerstoff bildet einen Übergangskomplex (I) mit einem

$$^1M^* + {}^3O_2 \longrightarrow (M^+O_2^-)^* \longrightarrow {}^3M^* + {}^3O_2$$

I

angeregten Aromatenmolekül, aus dem durch Intersystem-Crossing $S_1 \longrightarrow T_1$ ein Übergang zu einem Triplettzustand erfolgen kann[45]. Bei den untersuchten Verbindungen (Anthracen und Perylen) ist jedoch der Einfluß

der Sauerstoffaktivierung vernachlässigbar, insbesondere, wenn bei konstanter Temperatur und konstantem Druck bei Routinemessungen die Sauerstoffkonzentration gleich bleibt.

4.1.5. Einfluß der Lichtstreuung

Bei sehr verdünnten Probenlösungen kann das Sekundärstreulicht anderer Herkunft - wie Raman-, Rayleigh-, Tyndallstreuung - die Fluoreszenzintensitätsmessungen verfälschen. Da die Intensität dieser Streueffekte jedoch hauptsächlich von dem in großem Überschuß vorhandenen Lösungsmittel verursacht wird, tritt sie bei der Auswertung der immer mitgemessenen Blindwerte jeweils in praktisch gleicher Intensität auf und kann abgezogen werden. Der gesamte Effekt der Lichtstreuung - Rayleigh und Tyndall - auf die Intensitäten wird in Abschnitt 4.2 im Zusammenhang mit der Untersuchung der Wirkung nichtabsorbierender Fremdmoleküle geprüft.

4.2. Aromaten neben Fremdmolekülen

Häufig wird durch Anwesenheit fremder Moleküle die Fluoreszenzanalyse der Aromaten beeinflußt. Im Hinblick

auf die Aromatenbestimmung in Mineralöl wurden die Einflüsse unterschiedlicher Fremdmolekülarten, die in Mineralölen zugegen sein können, als Partner bei der Perylenbestimmung untersucht. Diese Untersuchungen wurden unter dem Gesichtspunkt der Fluoreszenzintesitätsbeeinflussung im Perylen durchgeführt. Die Verminderung der Fluoreszenzintensitäten von Perylen kann als Folge einer Löschung, durch Inneren Filter-Effekt oder möglicherweise auch durch Lichtstreuung zustandekommen, während die Intensitätserhöhung durch die Addition der Fluoreszenzintensitäten von Perylen und der Fremdsubstanz und/oder durch die Sensibilisierung der Perylenfluoreszenz durch den Partner erfolgen kann.

4.2.1. Fluoreszenz von Aromaten in Gegenwart von Fremdmolekülen ohne Eigenabsorption

Bei der Prüfung auf die Perylenfluoreszenzintensitätsverminderung eignet sich zuerst der Zusatz neutraler Molekküle zur Feststellung deren Effekte auf Streuung und Löschung.

4.2.1.1. Prüfung auf Streuung

Die Streueffekte - wie Rayleigh- und Tyndallstreuung - sind keine molekülspezifischen Eigenschaften, sondern sind vielmehr der Molekül- oder Teilchengröße der streuenden Substanz proportional. Wenn Streuung von Bedeutung ist, sollte der Zusatz von Paraffinen zunehmender Molekülgröße eine Abnahme der Perylenfluoreszenz herbeiführen (siehe Tabelle 4.1).

Da die Paraffine im UV- bis sichtbaren Bereich keine meßbare Absorption zeigen, kann ihre Löschwirkung für die Fluoreszenz nur aufgrund der Zusammenstöße mit den angeregten Perylenmolekülen zustandekommen. Die Löschung durch Eximerenbildung mit Perylen-P*-Molekülen ist wegen der inerten Eigenschaften von Paraffinen, wenn überhaupt, minimal. Auch der Filter-Effekt dürfte keine Rolle spielen. Es bleibt also für die Löschung praktisch nur die thermische Energieabgabe von angeregten Perylenmolekülen bei Zusammenstößen mit Paraffinmolekülen.

Zur Untersuchung beider Effekte wurden die Intensitäten der Fluoreszenz von Perylen einmal gemessen unter Zusatz von gleichen Mengen der Paraffine C_{16}, C_{20}, C_{30} und C_{35} zu steigenden Mengen Perylen in Benzol. Zum anderen wurde die Abhängigkeit der Fluoreszenz von Perylen bei steigendem Zusatz der Paraffine (C_{16}) studiert. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 4.1 und 4.2 dargestellt. Es wurden

Perylen (µg)	Paraffin*	Intensität		Abweichung	
		F	F(o.P.)	abs.	(%)
88,0	C_{16}	184,1	181,9	+ 2,2	+ 1,1
	C_{20}	175,3		- 6,6	- 3,6
	C_{30}	179,4		- 2,5	- 1,3
	C_{35}	185,1		+ 3,2	+ 1,7
252,0	C_{16}	537,0	525,7	+ 11,3	+ 2,1
	C_{20}	532,7		+ 7,0	+ 1,3
	C_{30}	530,5		+ 4,8	+ 0,9
	C_{35}	519,5		- 6,2	- 1,1
378,0	C_{16}	792,3	798,1	- 5,8	- 0,7
	C_{20}	784,9		- 13,2	- 1,6
	C_{30}	801,3		+ 3,2	+ 0,9
	C_{35}	805,1		+ 7,0	+ 0,8
630,7	C_{16}	1378,1	1367,9	+ 10,1	+ 0,7
	C_{20}	1360,5		- 7,4	- 0,5
	C_{30}	1342,9		- 25,0	- 1,8
	C_{35}	1351,9		- 16,0	- 1,1

Tabelle 4.1: Abhängigkeit der Perylenfluoreszenzintensität bei Zusatz von Paraffinen unterschiedlicher Kettenlänge

$\lambda_{Anregung}$ = 408 nm

$\lambda_{Emission}$ = 447 nm

Lösungsmittel: 100 ml Benzol

*vorgelegte Paraffinmenge jeweils 0,5 g

Perylen (µg)	Paraffin (g)	Intensität F	Intensität F(o.P.)	Abweichung abs.	Abweichung (%)
252,0	0,5	537,0	525,7	+ 11,3	+ 2,1
	2,0	541,4		+ 15,7	+ 2,9
	4,0	536,2		+ 10,5	+ 1,9
378,0	0,5	792,3	798,1	- 5,8	- 0,7
	2,0	807,4		+ 9,3	+ 1,1
	4,0	813,7		+ 15,6	+ 1,9
630,7	0,5	1378,1	1367,9	+ 10,2	+ 0,7
	2,0	1382,5		+ 14,6	+ 1,0
	4,0	1358,7		- 9,2	- 0,6

Tabelle 4.2: Perylenfluoreszenzintensität für zunehmende Paraffinmengen

$\lambda_{Anregung}$ = 408 nm

$\lambda_{Emission}$ = 447 nm

Lösungsmittel: 100 ml Benzol

jeweils die gemessenen, gegebenenfalls nach entsprechender Verdünnung der Lösungen, erhaltenen Fluoreszenzintensitäten den unter Annahme einer fehlenden Wechselwirkung gefundenen Intensitäten gegenübergestellt. Sowohl für den Fall des Zusatzes gleicher Paraffinmenge steigender Molekülgröße als auch für die Variation des Paraffinzusatzes bei konstanter Kettenlänge bleiben die gefundenen relativen Abweichungen in der Größe von nicht mehr als 1 % , so daß sich in der Tat keine merkliche Beeinflussung konstatieren läßt. In dem durch die Experimente abgesteckten Rahmen des Zusatzes inerter Substanzen paraffinischer Art ist also keine Veränderung der Fluoreszenzintensitäten festzustellen. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 4-5 bis 4-8 aufgetragen.

4.2.2. Perylenbestimmung unter Zusatz von Fremdmolekülen mit Eigenabsorption

Zur Prüfung der Wirkung einer absorbierenden Substanz auf Perylen wurde die Bestimmung des Perylens unter Zusatz von Anthracen vorgenommen. In diesem System kann sowohl Löschung, Filter-Effekt als auch sensibilisierte Fluoreszenz möglich sein. Folgende Bedingungen wurden gewählt:

Die Anregung muß mit der Wellenlänge erfolgen, bei der Anthracen und Perylen annähernd gleiche Absorp-

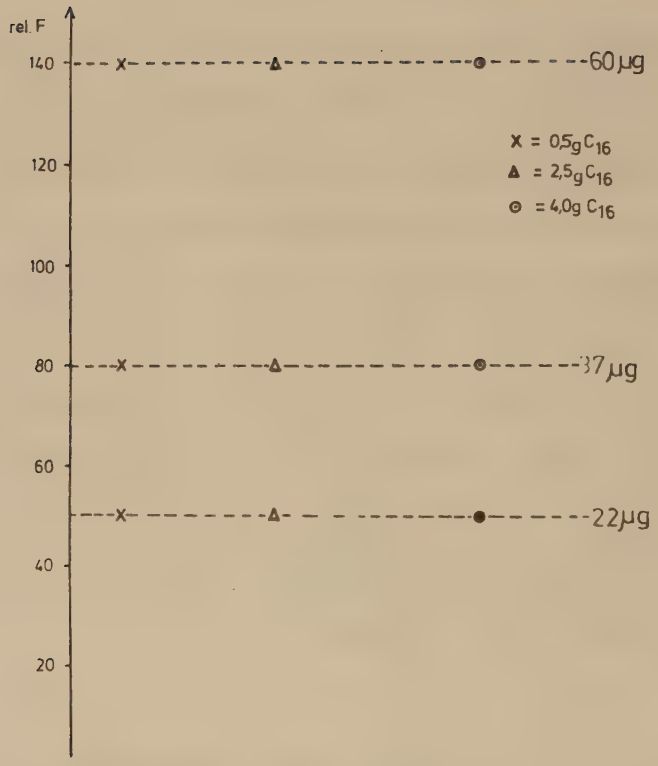


Abbildung 4-5: Einfluß von steigendem Paraffin-Zusatz (C_{16}) auf die Perylen-fluoreszenzintensität

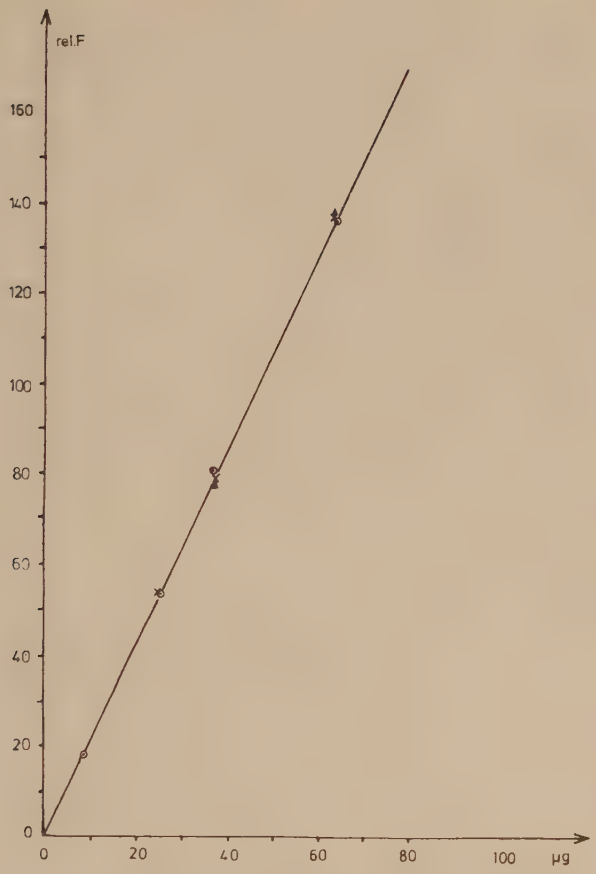


Abbildung 4-6: Vergleich der Daten aus Abbildung 4-5 mit Fluoreszenzintensitäten von Perylen ohne Paraffin-Zusatz

× 0,5 g C_{16};

Δ 2,5 g C_{16};

⊙ 4,0 g C_{16};

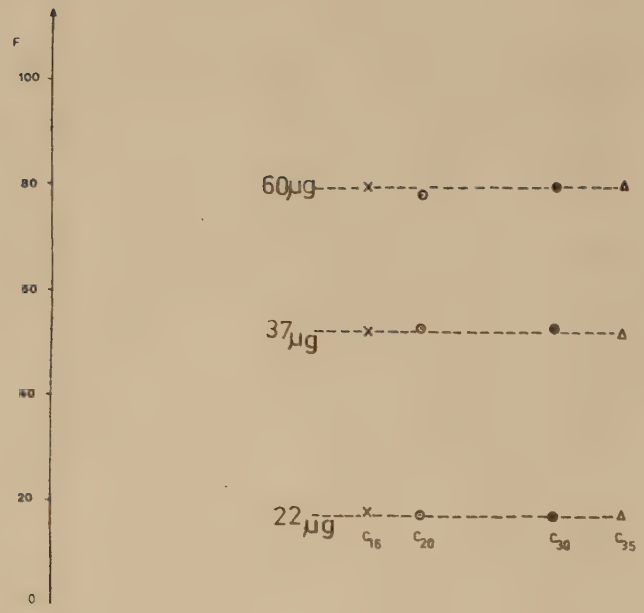
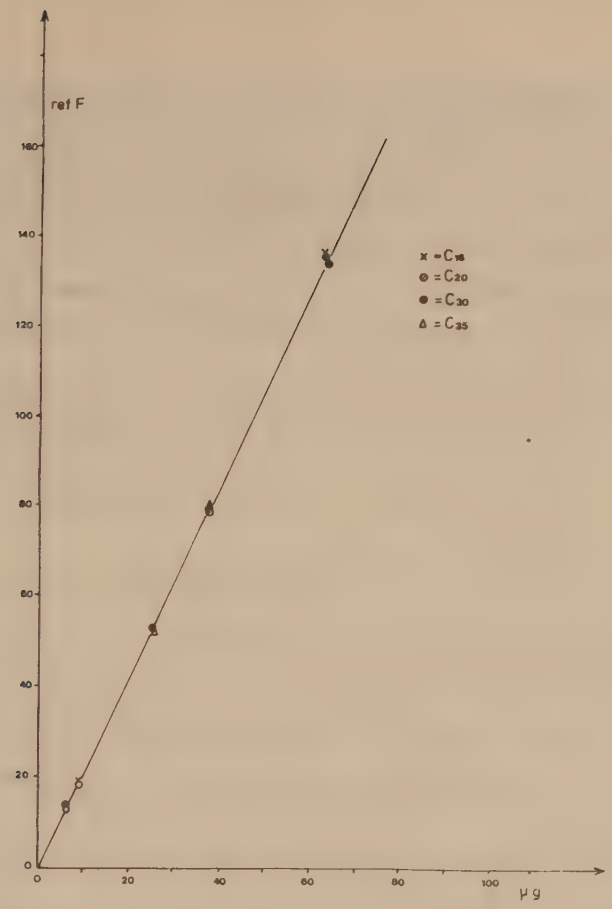


Abbildung 4-7: Einfluß der Paraffine mit steigender Kettenlänge auf die Perylenfluoreszenz



Abbidlung 4-8: Vergleich der Daten aus Abbildung 4-7 mit der Perylenfluoreszenz ohne Paraffin-Zusatz

tionskoeffizienten besitzen, damit die beiden Komponenten etwa gleich stark angeregt werden;

Die für Perylen notwendigen Emissionsintensitäten müssen bei der Wellenlänge gemessen werden, wo möglichst Anthracen nicht emittiert;

Die Summe der Konzentrationen der beiden Komponenten muß in der Größenordnung von $5 \cdot 10^{-8}$ bis 10^{-6} mol/l liegen;

Die Absorptionsspektren sowohl von Anthracen als auch von Perylen dürfen das Perylenfluoreszenzspektrum bei der zu messenden Emissionswellenlänge nicht überdecken, um mögliche Reabsorptionen zu vermeiden.

Die Absorptions- und Fluoreszenzspektren von Anthracen und Perylen sind in den Abbildungen 5-1 und 5-2 und 5-3 wiedergegeben.

Für die Untersuchung der gegenseitigen Beeinflussung wurde die Anregung bei 375 nm gewählt, wo die Extinktionskoeffizienten der beiden Komponenten annähernd übereinstimmen. Im Prinzip muß man folgende Effekte erwarten:

Wenn, wie im vorliegenden Fall, beide Komponenten absorbieren, läßt sich zeigen, daß die differentielle Absorption in einem Schichtelement

$$\frac{di_A}{dx} = I_0 \varepsilon_1 c_1 dm \cdot e^{-d(\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2)m} + I_0 \varepsilon_2 c_2 dm \cdot \cdot e^{-d(\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2)m} \qquad (4.1)$$

ist, wo ε_1 und ε_2 die Lambert-Beerschen Extinktionskoeffitienten, d die Schichtdicke, c_1 und c_2 die Konzentrationen der beiden Komponenten und I_0 die Intensität des Erregerlichtes sind. D.h. also, daß die partielle Absorption jeder Komponente von deren Absorptionseigenschaften (Absorption und Extinktionskoeffizienten) abhängt. Im Gebiet, wo nur eine Komponente absorbiert, ist ihre Fluoreszenzintensität nur proportional zu deren Absorptionsanteil:

$$dF = g\, I_0\, \Phi_1\, \varepsilon_1\, c_1\, m\, e^{-x(\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2)m} \cdot dx \qquad (4.2)$$

Damit wird nach Integration von Gleichung (4.2) in der Einstrahlrichtung die Fluoreszenzintensität

$$F = \int_{x=0}^{x=d} g\, I_0\, \Phi_1\, \varepsilon_1\, c_1\, m\, e^{-x(\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2)m}\, dx$$

$$= \frac{g\, I_0\, \Phi_1\, \varepsilon_1\, c_1}{\varepsilon_1\, c_1 + \varepsilon_2 c_2} \left[1 - e^{-d(\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2)m} \right] \qquad (4.3)$$

Durch Entwicklung der e-Funktion ergibt sich

$$F = g\, I_0\, \Phi_1\, \varepsilon_1\, c_1 d \left(1 - \frac{d}{2}(\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2)\right) \qquad (4.4)$$

Solange dieser zweite Term vernachlässigbar ist, bleibt die Intensität unabhängig von der zweiten Komponente. Diese Bedingung ist bei einer Konzentration von 10^{-6}-M und $\varepsilon = 8 \cdot 10^3$ erfüllt.

Eine Löschung der Perylenfluoreszenz durch Anthracenmoleküle ist möglich. Bei den gegebenen Konzentrationen ist jedoch Löschung durch Stöße als minimal anzunehmen. Löschung kann daher mehr durch "Longrange-Energy-Transfer" erfolgen. Das würde zu einer Erniedrigung der Perylenfluoreszenzintensität führen.

Schließlich besteht umgekehrt die Möglichkeit der Sensibilisierung der Perylenfluoreszenz durch angeregte Anthracenmoleküle, da das Triplettniveau des Anthracens etwas über dem vom Perylen liegt (22). Dies würde eine Erhöhung der Perylenfluoreszenz bedeuten. Es ist möglich, daß die beiden Effekte - Löschung und Sensibilisierung - gleichzeitig konkurrieren. Nach Parker und Rees (46) ist jedoch bei Löscherkonzentrationen weit unter 10^{-4}-M die Löschung nicht sehr signifikant und die Sensibilisierung überwiegt die Löscheffekte. Auch bei unseren Konzentrationen liegt mit Sicherheit der mittlere Abstand zwischen den einzelnen Molekülen über dem kritischen Abstand für die Energieübertragung: Anthracen - Perylen 54 Å (34). Nach obigen Betrachtungen ist es berechtigt zu erwarten, daß die Erhöhung der Anthracen-

konzentration keine wesentliche Veränderung der Perylenfluoreszenzintensitäten herbeiführen wird. Abbildung 4-9 und Tabelle 4.3 zeigen die Intensitäten bei verschiedenen Perylen/Anthracen-Molverhältnissen. Das Experiment zeigt, daß auch ein über zehnfacher molarer Überschuß von Anthracen nicht genügt, die Perylenfluoreszenzintensitäten in dem gemessenen Bereich entscheidend zu beeinflussen. (Untersuchungen über die Additivität von Anthracen- und Perylenfluoreszenzintensitäten werden im Abschnitt 5 behandelt.)

Perylen $\mu mol \cdot l^{-1}$	Antracen $\mu mol \cdot l^{-1}$	molares Pery.-Anthr.-Verhältnis	Fluoreszenz-intensität
0,98	0,28	1 : 1,4	5,2
	0,56	1 : 2,8	4,6
	1,12	1 : 5,6	4,6
	1,68	1 : 8,5	4,68
	2,24	1 : 11,3	4,54
	2,8	1 : 14,1	4,62
3,96	0,28	1 : 0,7	8,9
	0,56	1 : 1,4	8,7
	1,12	1 : 2,8	8,49
	1,68	1 : 4,2	8,56
	2,24	1 : 5,6	8,53
	2,8	1 : 7,1	8,65

Tabelle 4.3: Perylenfluoreszenzintensitäten bei zunehmender Anthracenkonzentration.

λAnregung: 375 nm

λEmission: 508 nm

(keine Fluoreszenzüberlappung)

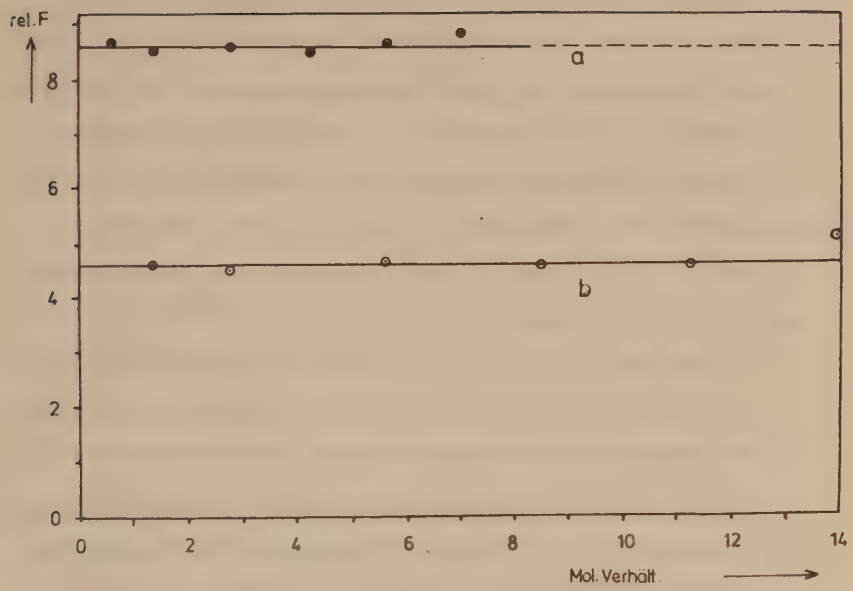


Abbildung 4-9: Einfluß von Anthracen-Zusatz auf die Perylenfluoreszenz

Anregung: 375 nm
Emission: 508 nm

a: 0,396 µmol l^{-1}
b: 0,198 µmol l^{-1}

Lösungsmittel: Benzol

4.3. Bestimmung von Perylen in Mineralöl

Häufig ist es ein Problem, in dem komplexen Gemisch, wie es Mineralöle darstellen, einzelne Aromaten direkt zu bestimmen. Die Gefahr der Beeinflussung der Analyse durch andere Komponenten ist sehr groß. Für Routinemessungen könnten zeitraubende Trennvorgänge auf ein erträgliches Maß reduziert werden, wenn man den gesuchten Aromat durch direkte Bestimmung, trotz Einwirkung anderer Komponenten, abschätzen könnte. Mineralöle enthalten Substanzen, die sowohl stark absorbieren als auch emittieren. Überlappungen in den Absorptions- und Fluoreszenzspektren machen solche Messungen kompliziert.

Es ist die Aufgabe, an dieser Stelle am Beispiel unserer Bezugssubstanz - Perylen - die direkte Bestimmung der Aromaten in Mineralölproben zu versuchen. Dabei geht es um die Bestimmung durch "Standard Addition" von Perylen unter Messung der Intensitäten der Hauptfluoreszenzbanden. Es gibt zwei Verfahrensvarianten dieser Bestimmung:

1. Bestimmung nach einer Vortrennung des Öles in die Hauptgruppen der Kohlenwasserstoffe;
2. Bestimmung ohne Trennung direkt in der Mineralölmatrix.

4.3.1. Bestimmung des Perylens in Mineralöl mit Vortrennung durch Fluoreszenz-Indikator-Adsorptions-Verfahren ("FIA")

Für die Vortrennung einer Mineralölprobe eignet sich das Fluoreszenz-Indikator-Adsorptions-Analysenverfahren[48] Das "FIA"-Verfahren, als verdrängungschromatographisches Verfahren, eignet sich u.a. besonders gut für diese Trennung, weil die Substanzklassen - Paraffine, Olefine und Aromaten - in drei Zonen sehr bequem mit einer UV-Lampe verfolgt werden können. Durch dosierte Dotierung der Ölprobe mit Perylen wird nicht nur dessen Bestimmung vorgenommen, sondern gleichzeitig auch die Leistungsfähigkeit des FIA-Verfahrens durch Analyse der einzelnen Zonen für Perylen geprüft. Es gibt auch die Gelegenheit, Perylen in einer Matrix, bestehend nur aus Aromaten, zu analysieren.

Das FIA-Verfahren besteht in einer verdrängungschromatographischen Analyse einer kleinen Mineralölprobe (o,75 ml) an einer standardisierten mit Silicagel beschickten Kapillare. Der Ölprobe wird ein Indikatorgemisch zugesetzt, das aus drei fluoreszierenden Verbindungen besteht, deren Retentionszeiten zwischen denen der zu analysierenden Kohlenwasserstoffgruppen liegen. Die Probe wird auf die Säule aufgebracht und mit Isopropanol ver-

drängt. Die Paraffine, Olefine und Aromaten werden in drei aufeinander folgende Zonen getrennt, deren Begrenzung durch intensive Fluoreszenz der Indikatoren mit Hilfe der UV-Lampe sichtbar gemacht werden kann. Der realtive Anteil der drei Komponenten-Gruppen kann durch Längenmessung der kalibrierten Säule ermittelt werden.

4.3.1.1. Prüfung der Reproduzierbarkeit des FIA-Verfahrens

Bisher begnügte man sich, das FIA-Verfahren für die Ermittlung der drei Kohlenwasserstoffklassen einzusetzen, um ihre anteilmäßige Zusammensetzung volumetrisch abzulesen. Es wurde wenig Wert gelegt auf die Eluierung der einzelnen Zonen. Es gilt nun zu prüfen, wie unter den Bedinungen der FIA-Analyse die eingesetzten Aromaten quantitativ gewonnen werden können. Für diesen Zweck wurde eine Serie von synthetischen Proben von C_{16}-Paraffin mit dem gleichen Volumen Benzol der FIA-Trennung unterworfen bei gleichzeitigem Zusatz dosierter Perylenmengen. Zehn gewogene Fraktionen eines jeden "Runs" werden auf die Perylenfluoreszenz analysiert. Die Summen der Fluoreszenzintensitäten der zehn Fraktionen sollten äquivalent zu den vorgegebenen Perylengehalten sein. In Ab-

bildung 4-1o werden die typischen Verläufe der Fluoreszenzintensitätssummen aufgetragen gegen den Gewichtsanteil der Fraktionen.Die Summenintensitäten sind in Abbildung 4-11 aufgetragen gegen die Perylenmenge. Man erkennt, daß eine gute Regression zwischen der wieder ausgebrachten Perylenmenge und der Vorgabe besteht. Die Regressionskonstante wurde durch Regressionsanalyse ermittelt. Sie beträgt in willkürlichen Einheiten 1,79 gegenüber einem Erwartungswert von 2,o1 für diese untersuchte Probe. Tabelle 4.4 zeigt die Ergebnisse im Vergleich zur Perylenbestimmung in der unbehandelten Probe.

Perylen-einwaage (µg)	Summe Fluoreszenz-intensität	Fluoreszenz-intensität der Einwaage	Abweichungen F	Abweichungen %
0,946	1,1966	1,9003	- 0,7037	- 37,03
1,89	3,569	3,8	- 0,228	- 5,9
3,76	6,456	7,55	- 1,097	- 14,5
7,89	12,725	15,849	- 3,124	- 19,7
15,578	28,665	31,13	- 2,472	- 7,9

Tabelle 4.4: Rückgewinnung des Perylens aus der FIA-Säule

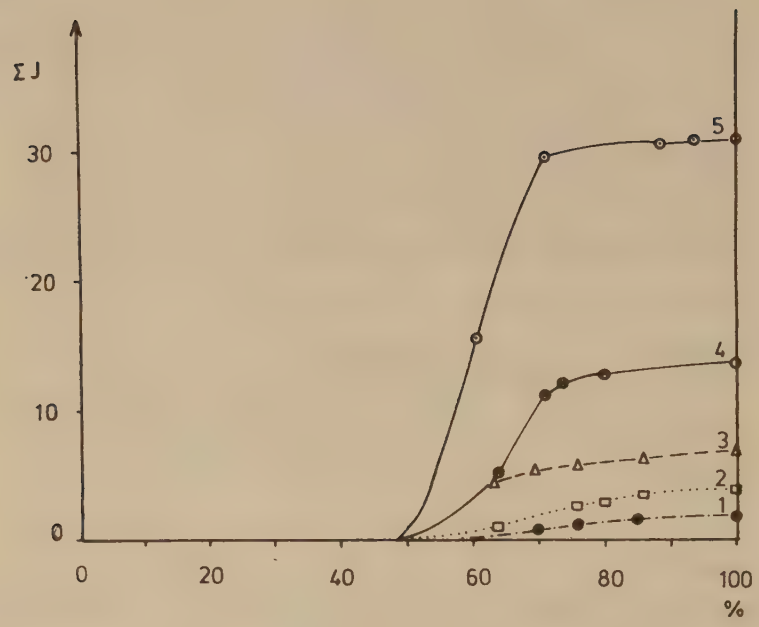


Abbildung 4-1o: Verläufe der Fluoreszenzintensitätssummen gegen die Gewichtsanteile der FIA-Fraktionen

Peryleneinwaage 1: o,95 µg
2: 1,89 µg
3: 3,76 µg
4: 7,89 µg
5: 15,o µg

Lösungmittel: Benzol

Anregung: 4o8 nm
Emission: 447 nm

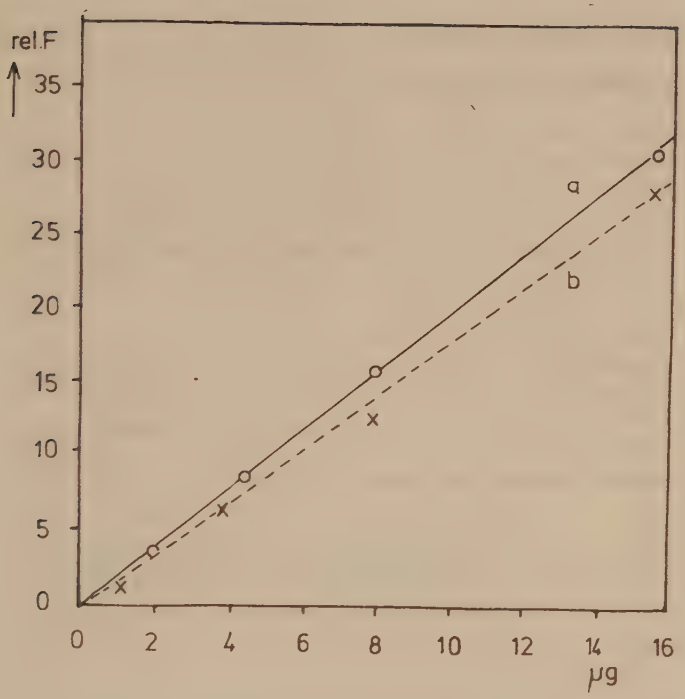


Abbildung 4-11: Summenfluoreszenzintensitäten aufgetragen gegen die Peryleneinwaage

a: Gerade für reines Perylen zum Vergleich

b: Gerade für die Summenintensitäten aus der FIA-Analyse

Anregung: 4o8 nm

Emission: 447 nm

Lösungsmittel: Benzol

Nach den Ausgleichsgeraden (siehe Tabelle 4.5) werden druchschnittlich 1o % weniger Perylen aus der FIA-Säule zurückgewonnen.

	Perylen mit FIA	Perylen ohne FIA
Regressions-konstante b	1,79	2,o1
Korrelations-koeffizient r	o,9969	o,99996

Tabelle 4.5: Vergleich der Ausgleichskonstanten für Perylen mit und ohne FIA-Behandlung

Dieser Verlust ist offenbar darauf zurückzuführen, daß auch nach dem Ende der Aromatenzone noch erkennbare Perylenfluoreszenz im Verdrängungsmittel analysiert wird. Der gute Korrelationskoeffizient für die Wiederfindungsrate läßt eine gute quantitative Beziehung für die vorgegebenen und die wiedergefundenen Mengen zu.

4.3.1.2. Bestimmung von Perylen in Mineralöl durch Messung der Fluoreszenz der FIA-Zonen

Eine Reihe von Ölproben wurden in gleicher Weise wie oben mit verschiedenen Perylenmengen dotiert und die FIA-Zonen durch Fraktionssammlung und Perylenfluoreszenz verfolgt. Im Anhang (Abbildungen 7-3) sind die typischen Fluoreszenzspektren einer ganzen Serie FIA-Fraktionen mit wachsenden Perylenintensitäten aufgezeichnet. Die daraus berechneten aufsummierten Intensitäten sind pro Analyse gegen den Gewichtsbruch der FIA-Fraktionen aufgetragen (Abbildung 4-12). Die errechneten globalen Gesamtintensitäten jeweils einer Analyse sind in Abbildung 4-13 gegen die eingesetzten Perylenmengen aufgetragen. Zum Vergleich ist die Ausgleichsgerade (untere Gerade) aufgetragen, die sich aus der FIA-Analyse des synthetischen Gemisches C_{16}-Paraffin/Perylen in Benzol ergeben hatte (Tabelle 4.6 und Abbildung 4-13). Bei Dotierung des Öls (obere Gerade) ergibt sich ein nahezu paralleler Verlauf der Ergebnisse der Fluoreszenzanalyse der FIA-Fraktionen. Der Achsenabschnitt entspricht dem Perylenäquivalent des Öls, das sich aufgrund der vorangegangenen Eichung (32,5 µg Perylen / g Öl) ergibt.

Der Eluierungskurve des Perylens in den synthetischen Mischungen ist zu entnehmen, daß in den Anfangsfrak-

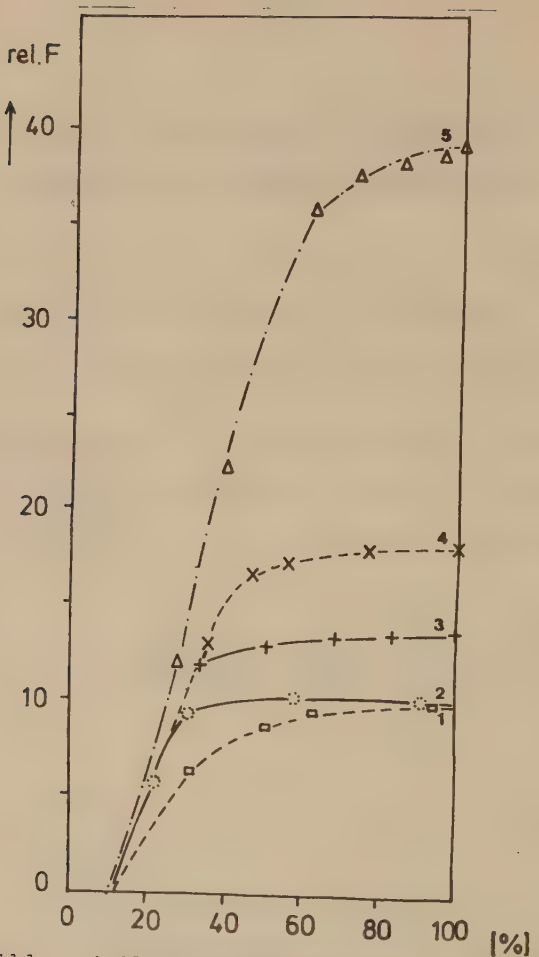


Abbildung 4-12: Summenintensitäten pro Analyse aufgetragen gegen den Gewichtsbruch der FIA-Fraktionen (Ölproben mit verschiedener Perylendotierung)

1: o,o µg Perylen
2: o,69 µg Perylen
3: 3,44 µg Perylen
4: 6,88 µg Perylen
5: 17,5 µg Perylen

Anregung: 4o8 nm
Emission: 447 nm

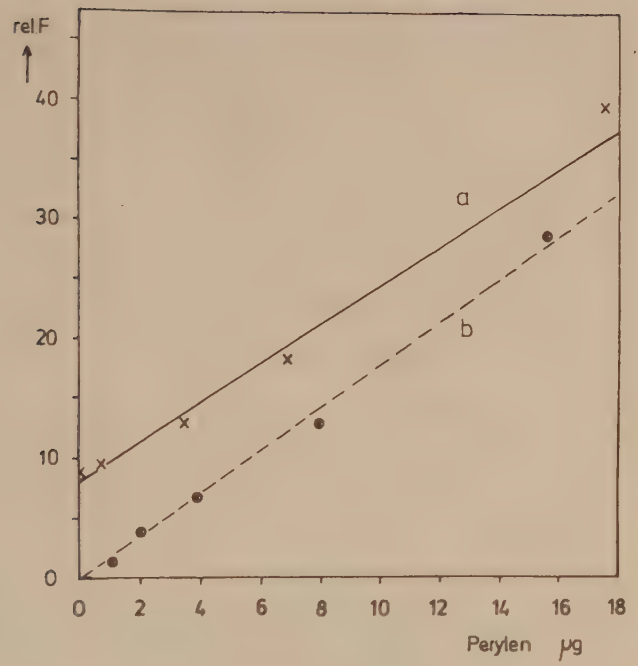


Abbildung 4-13: Gesamtintensitäten pro Analyse aufgetragen gegen die Perylendotierung (a), zum Vergleich ist (b) aus Paraffin/ Perylen aus der FIA-Analyse aufgetragen (Abbildung 4-11)

Lösungsmittel: Benzol

Anregung: 4o8 nm
Emission: 447 nm

Perylendotierung (µg) in 0,75 ml FIA-Probe	Summe der Fluoreszenzintensitäten der Fraktionen
3,44	12,91
6,88	18,23
34,6	64,95
0,69	9,52
17,5	39,47
0,00	9,09

Tabelle 4.6: Perylenfluoreszenzintensitäten eines über FIA-Säule fraktionierten Öls mit steigender Perylendotierung

Parameter der Ausgleichsgeraden:

Achsenabschnitt a = 8,208

Steigung b = 1,6167

Korrelationskoeffizient r = 0,997

Perylenäquivalent vom Achsenabschnitt des Öls 32,5 g/g Öl

tionen - Paraffinzonen - Perylen nicht nachzuweisen ist. Auch in dem perylendotierten Öl sind die Paraffinzonen perylenfrei. Bei den Aromatenzonen*) treten jedoch Perylenfluoreszenzbanden in allen Fraktionen auf. Während also die Abtrennung des Perylens in den paraffinischen Zonen vollkommen erscheint, erlauben die Ergebnisse keine eindeutige Aussage über die unterschiedliche Verdrängung der Komponenten innerhalb der Aromatenzonen. Das FIA-Verfahren vermag also die einzelnen Kohlenwasserstoffklassen voneinander selektiv abzusondern, besitzt offensichtlich aber nicht dieselbe Effektivität, um die Aromaten unter sich auch selektiv zu verdrängen. Die Tatsache, daß - wie die Ergebnisse in Abschnitt 4.3.1. bei Prüfung der FIA-Säulen zeigen - stets weniger Perylen als eingegeben wiedergewonnen wird, kann ein Hinweis auf diese fehlende Effektivität sein. Es sei deshalb darauf verwiesen, daß die hier errechneten Perylenkonzentrationen des Öls nur als ein Perylenäquivalent anzusehen sind , die sich aus Integralen der relativen Intensitäten aller vorkommenden fluoreszierenden Aromaten errechnen. Die Untersuchung zeigt, daß es also für die exakte Analyse der einzelnen Komponenten unumgänglich ist, diese jeweils individuell und selektiv zu bestimmen.

---

*) In dem Analysenöl fehlen die Olefine

4.3.2. Bestimmung von Perylen in Mineralöl ohne Vortrennung

Die Ergebnisse aus der Bestimmung des Perylens in Gegenwart hochkettiger Paraffine haben gezeigt, daß bei mehrfachem Überschuß die Paraffinmenge kaum einen Einfluß auf die Perylenfluoreszenzintensitäten erwarten läßt. Man kann damit sagen, daß für die Bestimmung des Perylens in einer Mineralölmatrix die Hauptschwierigkeit vor allem bei den absorbierenden Anteilen - z.B. andere Aromaten - liegt. Die Anwesenheit dieser Aromaten stellt die Frage nach der Verminderung der Perylenfluoreszenzintensität durch Filter-Effekt und Löschung einerseits und/oder andererseits nach der Erhöhung der Intensitäten in Form von Sensibilisierung oder gemeinsamer Emission.

Die Ergebnisse aus der Bestimmung der Perylenfluoreszenz in den Aromatenzonen des Mineralöls aus der FIA-Säule zeigen eine Linearität der Intensitätssummen mit zunehmendem Perylengehalt. Damit liegt die Frage nahe, ob eine direkte Bestimmung in Mineralöl ohne Vortrennung nicht etwa zu gleichen oder besseren Ergebnissen führen könnte. So gilt es, folgende Überlegung zu prüfen:

Wenn, wie aus Gleichung (4.2) sowohl Perylen als auch

die übrigen Substanzen - z.B. das Öl als eine Einheit angenommen - absorbieren und emittieren, dann läßt sich zeigen, daß die gemessene Fluoreszenzintensität in einer Küvette (d = 1 cm) durch Gleichung (4.5) darzustellen ist, vorausgesetzt, Einflüsse aus Löschung, Filter-Effekt und Sensibilisierung sind vernachlässigbar:

$$F_S = g\, I_0\, (\Phi_{f_1}\, \varepsilon_1 c_1 + \Phi_{f_2}\, \varepsilon_2 c_2) \cdot \cdot \left(1 - \frac{(\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2)}{2}\right) \qquad (4.5)$$

Hier sind Φ_{f_2} , ε_2 und c_2 die Quantenausbeute, der Extinktionskoeffizient bzw. die Konzentration des Restöls als eine Einheit genommen. Bei kleiner Absorption des Öls wird Gleichung (4.5):

$$F_S = g\, I_0 \Phi_{f_1} \varepsilon\, c_1 + g\, I_0\, \Phi_{f_2}\, \varepsilon_2\, c_2 \qquad (4.6)$$

Bei jeweils konstanter Anregung und Variation von c_1 ergibt sich aus Gleichung (4.6) eine lineare Beziehung

$$F_S = M\, c_1 + K \qquad (4.7)$$

wo M und K Konstanten sind. Bei Änderung von c_1 können M und K bestimmt werden.

Dieses Argument, das auch für die Bestimmung in der FIA-Analyse gilt, könnte die Fluoreszenzbestimmung durch "Standard-Addition" ermöglichen. Wenn das gelten soll, müßte auch bei jeweils konstantem c_1 eine Erhöhung von c_2 (Öl-Gehalt) eine lineare Beziehung ergeben.

Aus dieser Überlegung wurden verschiedene Mineralölproben, die mit unterschiedlichen Perylenkonzentrationen dotiert wurden, auf den Perylengehalt untersucht.

Die Abbildungen 4-14 und 4-15 zeigen die Auftragung der Intensitäten gegen die Perylendotierung für jeweils konstanten Mineralölgehalt. Die Regression aus den erhaltenen Werten zeigt in allen untersuchten Fällen einwandfreie Linearität. Abbildung 4-15 ist eine Parameterdarstellung der Abbidlung 4-14 für jeweils konstante Mengen des Öls. Darin wird auch die Abhängigkeit der Intensität von der eingesetzten Ölmenge bei gleichem Perylengehalt dargestellt. Die Konstante K ergibt jeweils das Perylenäquivalent für die eingesetzte Ölprobe. Tabelle 4.7 zeigt die Zusammenfassung der Intensitäten und die resultierenden Regressionskonstanten. Die K-Werte, umgerechnet pro Gramm des eingesetzten Mineralöls, sind fast gleich und beweisen die Gültigkeit der obigen Gleichung (4.7).

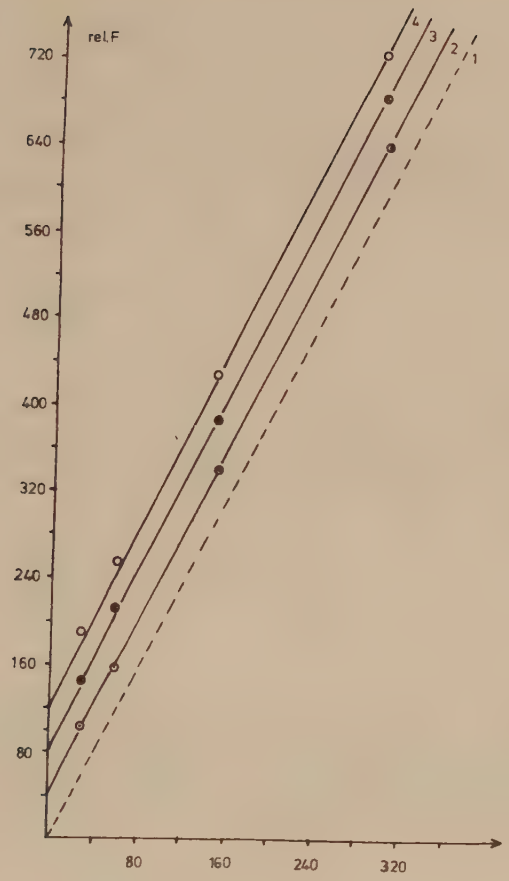


Abbildung 4-14: Fluoreszenzintensitäten des mit Perylen dotierten Öls

1: o,o g Öl (Perylen ohne Öl)
2: o,458 g Öl
3: o,9159 g Öl
4: 1,3739 g Öl

Lösungsmittel: Benzol

Anregung: 4o8 nm
Emission: 447 nm

Perylendotierung (µg)	rel. F	a	b	r
Eingesetzte Mineralölmenge: 0,4579 g				
301,76	643,8			
151,4	342,0	39,12	1,997	0,9982
60,55	157,8			
30,27	101,3			
Eingesetzte Mineralölmenge: 0,9159 g				
302,76	690,4			
151,4	388,1	87,18	1,9928	0,9943
60,55	212,3			
30,27	144,0			
Eingesetzte Mineralölmenge: 1,3739 g				
302,76	729,5			
151,4	428,7	132,08	1,976	0,9953
60,55	254,4			
30,27	190,2			

Tabell 4.7: Daten aus der Bestimmung von Perylen in Mineralöl
$\lambda_{Anregung}$: 408, $\lambda_{Emi.}$: 447 nm

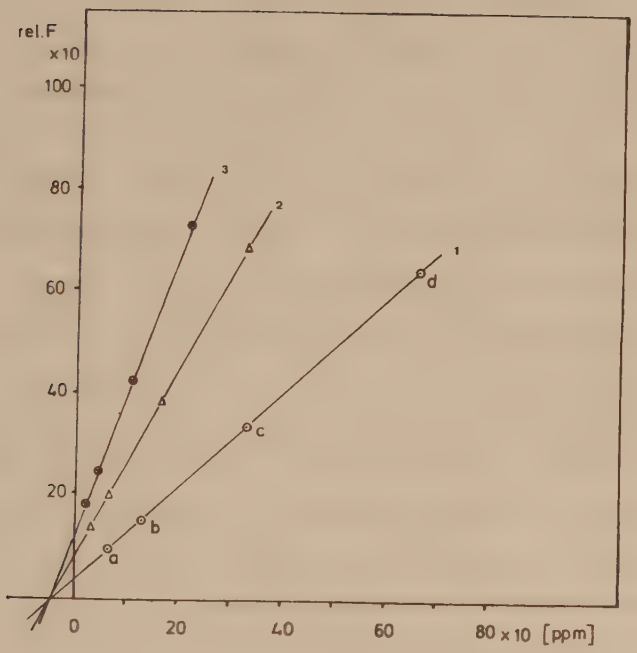
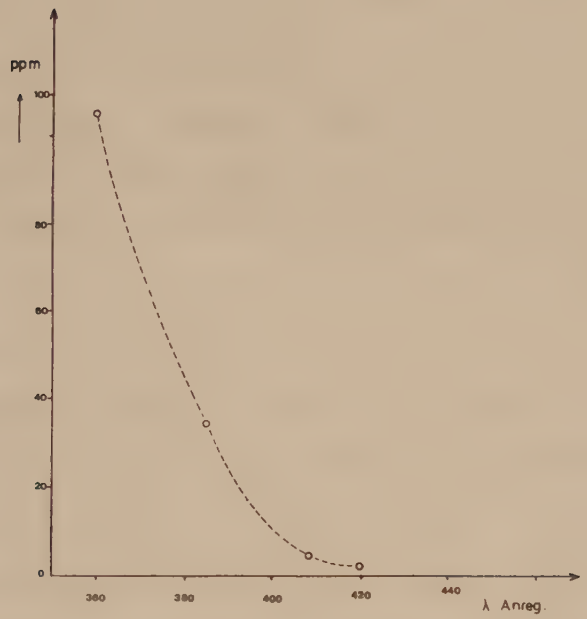


Abbildung 4-15: Fluoreszenzintensitäten des mit Perylen dotierten Öls: eine Parameterdarstellung von Abbildung 4-14 (Die Ziffern sind die gleichen wie in Abbildung 4-14).

a: 3o,27 µg Perylen
b: 6o,5 µg Perylen
c: 151,4 µg Perylen
d: 3o2,76 µg Perylen

Diese Konstanz bestätigt die Annahme, daß sowohl Filter-Effekt und Löschung als auch Sensibilisierung unter den vorliegenden Bedingungen keinen gravierenden Einfluß haben. Denn, wenn diese Effekte bedeutsam wären, könnte keine lineare Beziehung entstehen. Die gemessenen Intensitäten bestehen demnach nur aus der Summe der Intensitäten von Perylen- und Ölemission.

Nun kann man bei Gleichung (4.7) auch ε_1 und ε_2, d.h., die Anregungswellenlänge zugunsten des Öls oder des Perylens variieren. Es sollte daraus folgen, daß die gefundenen K-Werte und damit die Perylenäquivalente für höheren Absorptionsanteil des Öls größer, für günstigeren Absorptionsanteil des Perylens kleiner werden. Abbildung 4-16 demonstriert diesen Verlauf der K-Werte als Funktion der Anregungswellenlänge. Wie daraus zu sehen ist, erreichen die K-Werte einen Grenzwert, der zugleich das maximale Perylenäquivalent und damit den maximalen Perylengehalt des untersuchten Öls ergeben. Durch dieses Verfahren gelingt es, den Maximalgehalt des Perylens in einer gegebenen Ölprobe zu bestimmen. Es beweist, trotz der komplexen Matrix und Zusammensetzung des Öls, daß Fluoreszenzemission unter diesen Umständen additiv ist. Es ist danach denkbar, wie Parker und Barnes[30] an den Fluoreszenzspektren von Schmierölen zeigen, auch verschiedenen Ölen mit Perylen oder ähnlich stark



Abbidlung 4-16: Ermittelte Perylenäquivalente (K-Werte) gegen die Anregungswellenlänge
Emission: 447 nm

emittierenden Substanzen, durch Bestimmung der minimalen K-Werte Kenndaten zuzuordnen.

Der Verlauf der K-Werte als Funktion der Anregungswellenlänge könnte als eine Kennlinie für das jeweilige Öl betrachtet werden. Im übrigen zeigen diese Ergebnisse, daß für eine hinreichend emittierende Substanz eine spektrofluorimetrische Bestimmung in so einem komplexen Untergrund durch "Standard Addition" gewährleistet werden kann.

5. Fluoreszenzanalyse von Mehrkomponentensystemen

Für die Anwendung der Fluoreszenz in der Mehrkomponentenanalyse muß sichergestellt werden, daß zwischen den Komponenten die Störfaktoren, wie Löschung, Filter-Effekt und Sensibilisierung, nicht zum Tragen kommen. Im Abschnitt 4 ist gezeigt worden, daß diese Effekte vermieden werden können. Auch die lineare Additivität in so einer komplexen Matrix wie die hochsiedenden Mineralöle zeigt, daß die Störfaktoren unter den gewählten Bedingungen klein bzw. unerheblich gehalten werden können. Da diese Einflüsse minimiert werden können, erscheint es naheliegend, die Additivität der Fluoreszenz in der simultanen Mehrkomponentenanalyse näher zu untersuchen. Die Gültigkeit des Additivitätsgesetzes bei Überlappung der Absorptionsbanden mehrerer Komponenten im Gemisch bei einem Meßpunkt ($E_i = d \sum_j \varepsilon_{ij} c_j$) ist für die Routineanalyse weitgehend eine Selbstverständlichkeit. Wenn die obigen Einflüsse in Grenzen gehalten werden, sollte das Gesetz auch für die Überlappung der Fluoreszenzemission gelten, vorausgesetzt, folgende Bedingungen sind erfüllt:

a. die Absorptionen der einzelnen Komponenten müssen gut meßbare Emissionen im Meßbereich zur Folge haben;

b. die Intensitäten der Teilemissionen müssen ihrerseits hinsichtlich ihrer Beziehung zu der Konzentration eine Linearität aufweisen.

5.1. Spektren der Reinkomponenten Anthracen und Perylen

Nach obigen Ausführungen sollen für die folgenden Untersuchungen nur Substanzen in Frage kommen, deren Spektren sowohl in der Absorption als auch in der Fluoreszenz merkliche Überlappungen aufweisen. Das System Anthracen/Perylen erfüllt diese Bedingung weitgehend. Zum Vergleich werden die Absorptions- und Fluoreszenzspektren von Anthracen und Perylen in Abbildung 5-1, 5-2 und 5-3 gezeigt. Abbildung 5-2 zeigt dabei das Absorptionsspektrum zweier Lösungen in der gleichen Konzentration wie die in Abbildung 5-3 gemessenen Fluoreszenzintensitäten. In dem uns interessierenden Bereich*) liegen die Absorptionsmaxima von Anthracen bei 34o nm, 356 nm und 375 nm, während die entsprechenden Maxima für das Perylen bei 368 nm, 386 nm und 4o8 nm zu finden sind. Die Ex-

*) Da als Lösungsmittel Benzol gewählt wurde, sind Wellenlängen in höheren Energiebereichen für die Anregung ungeeignet

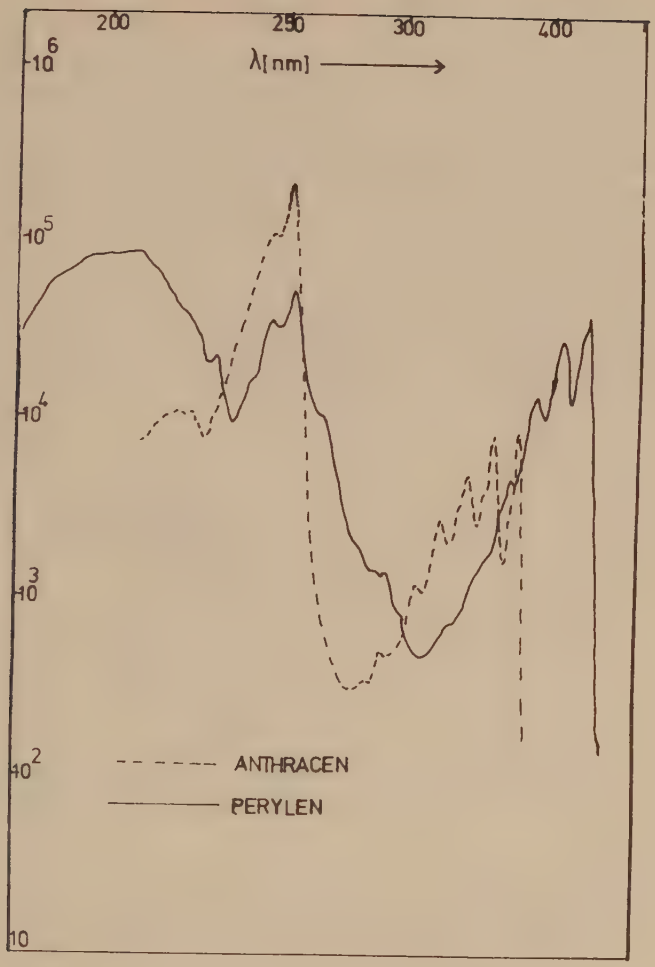


Abbildung 5-1: Absorptionsspektren von Anthracen und Perylen (nach H. Perkampus, UV-Atlas, Verlag Chemie 1968)

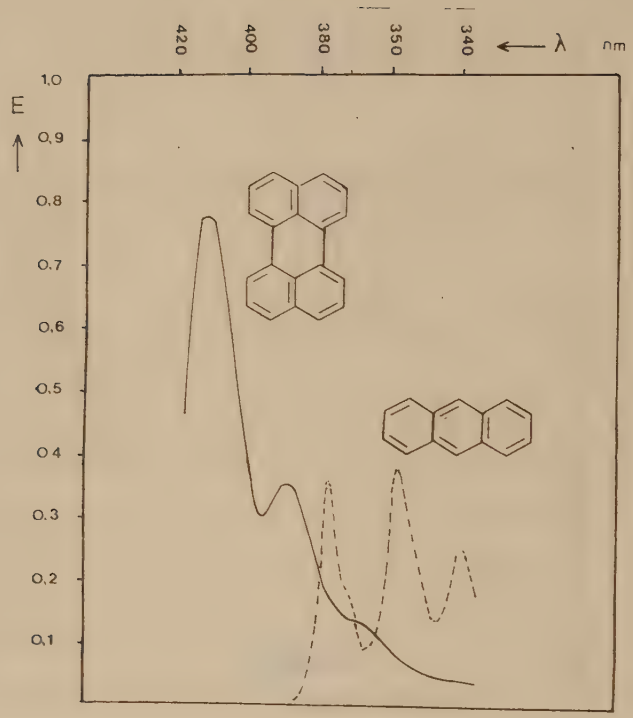


Abbildung 5-2: Absorptionsspektren von Anthracen und Perylen in Benzol

Anthracen: $7{,}8 \cdot 10^{-4}$ mol l^{-1}

Perylen : $5{,}9 \cdot 10^{-4}$ mol l^{-1}

Abbildung 5-3: Fluoreszenzspektren von Anthracen ($7{,}8 \cdot 10^{-4}$ mol l^{-1}) und Perylen ($5{,}9 \cdot 10^{-4}$ mol l^{-1})
Lösungsmittel: Benzol
Anregung: 375 nm

tinktionskoeffizienten von Anthracen und Perylen im Bereich zwischen 34o nm und 38o nm liegen etwa in der gleichen Größenordnung und bieten ein günstiges Überlappungsgebiet für die gemeinsame Anregung der beiden Komponenten in einem Gemisch. Im Anhang zeigt Abbildung 7-4 die Absorptionsspektren des Systems Anthracen/Perylen bei verschiedenen Konzentrationen.

Ein Blick auf die Emissionsspektren der beiden Komponenten (Abbildung 5-3) läßt erkennen, daß eine hinreichende Überlappung von Anthracen-und Perylenfluoreszenzspektren zwischen den Wellenlängen 44o nm und 48o nm zu erwarten ist, mit maximaler Überlappung bei 447 nm. Es erwies sich daher als sinnvoll, die Anregungen und die Fluoreszenzintensitätsmessungen in den genannten Gebieten vorzunehmen. Die Fluoreszenzspektren einiger Mischungen von Anthracen und Perylen sind im Anhang in Abbildung 7-5 dargestellt.

5.2. Modelle zur Additivitätsbeziehung der Mischfluoreszenz

Man muß zunächst annehmen, daß die Additivität der Fluoreszenzintensitäten nicht so einfach verläuft wie bei der Absorption. Deshalb erscheint es uns angebracht, verschiedene Modellbeziehungen aufzustellen,

um die möglichen Störkoeffizienten der Komponenten hinsichtlich ihrer Einflußgrößen aufeinander zu berücksichtigen und gegebenenfalls zu erfassen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden sechs empirische Modelle geprüft, von denen hier die geeigneten drei vorgestellt werden. Hierbei wurde bewußt auf eine mathematisch exakte Erfassung der Geometrie, der gegenseitigen Beeinflussung von Absorption und Emission und der hierdurch verursachten Störung verzichtet. Es wurde vielmehr der Versuch gemacht, Modellgleichungen aus den experimentell erhaltenen Daten mit Hilfe einer Regressionsanalyse auszugleichen. Für diese Regressionsanalyse wurde das Verfahren der multiplen nichtlinearen Regression eingesetzt, für das ein vorhandenes Rechenprogramm[56] existiert (siehe Anhang).

5.2.1. Modell I

Annahme der Gültigkeit der reinen Additivität der Fluoreszenzintensität der Komponenten

Im Falle der Gültigkeit des Additivitätsgesetzes für Fluoreszenzemission in einem Zweikomponentensystem besteht die gemessene Intensität der gemeinsamen Emission aus der Summe der Teilfluoreszenzintensitäten. Die Fluoreszenzintesität F_1 der Komponente 1

ergibt sich nach Gleichung (4.2) wie folgt:

$$F_1 = g \Phi_1 I_0 \varepsilon_1 c_1 d \left[1 - \frac{d(\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2)}{2} \ldots \right]$$

F_2, die Teilemission der Komponente 2 ergibt dementsprechend

$$F_2 = g \Phi_2 I_0 \varepsilon_2 c_2 d \left[1 - \frac{d(\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2)}{2} \ldots \right]$$

Bei den gewählten Konzentrationen ist $d(\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2)/2$ zu vernachlässigen, und so wird in der Näherung dieses Modelles

$$F_1 = g \Phi_1 I_0 \varepsilon_1 c_1 d \qquad \text{und}$$

$$F_2 = g \Phi_2 I_0 \varepsilon_2 c_2 d \, .$$

Die gemessene Intensität F_S im Gemisch ergibt sich danach zu

$$F_S = F_1 + F_2 = g I_0 d \left(\Phi_1 \varepsilon_1 c_1 + \Phi_2 \varepsilon_2 c_2 \right) \qquad (5.1)$$

Unter Zusammenfassung der gemeinsamen Konstanten und der komponentenspezifischen Größen ε_1 und ε_2 reduziert sich Gleichung (5.1) wie folgt:

$$F_S = A_1^I c_1 + A_2^I c_2 \qquad (5.2)^{*)}$$

wobei A_1^I und A_2^I die für die Meßbedingungen jeweils gültigen Emissionskoeffizienten der Komponenten 1 und 2 darstellen. Diese Koeffizienten A_1^I und A_2^I sind, übertragen aus der Absorption, die den spezifischen Extinktionen entsprechenden Größen und müssen für jede Komponente für die gleiche Anregung bei bestimmter Wellenlänge der Emission konstant und auch substanzspezifisch sein. Dabei sollen die Koeffizienten A_1^I und A_2^I für strenge Gültigkeit dieser Beziehung für die Komponenten sowohl im Gemisch als auch in reiner Lösung die gleichen Werte ergeben**). Sie erscheinen insbesondere auch deshalb angebracht, weil sie als Grundlage für die Beurteilung der Gültigkeit der Fluoreszenzadditivität geeignet sind.

---

*) Die römischen Ziffern verweisen auf das jeweilige Modell

**) Dieses versteht sich nur für das gleiche Meßgerät und die gleiche Meßanordnung sowie gleiche Meßbedingungen

5.2.2. Modell II

Annahme der gegenseitigen Beeinflussung der Emissionskoeffizienten

Grundlage diese Modells ist Modell I. Im Gegensatz zu der einfachen Annahme wird hier jedoch unterstellt, daß die Konstanten A_1^I und A_2^I im Vergleich mit den entsprechenden Werten aus den reinen Komponenten Abweichungen zeigen. Diese Abweichungen werden durch die Anwesenheit der jeweils zweiten Komponente bedingt und als ihr proportional angenommen. Bezeichnen wir die Emissionskoeffizienten der reinen Komponenten als a_{o1} und a_{o2}, und die Störkoeffizienten der Komponente 1 auf 2 als b_1 und die von der Komponente 2 auf 1 als b_2, so repräsentieren b_1 und b_2 die Abweichungsfaktoren für A_1 und A_2 von den Werten a_{o1} und a_{o2}. Während a_{o1} und a_{o2} in jedem Fall als konstant angenommen werden, können möglicherweise A_1 und A_2 von der Konzentration der beeinflussenden Komponente abhängig sein. Dementsprechend werden:

$$A_1 = a_{o1} + b_2 c_2 \qquad (5.3)$$

und

$$A_2 = a_{o2} + b_1 c_1 \qquad (5.3a)$$

Diese Korrekturen in Gleichung (5.2) eingesetzt, ergibt:

$$F_S = (a_{o1} + b_2c_2)c_1 + (a_{o2} + b_1c_1)c_2$$

$$= a_{o1}c_1 + b_2c_2c_1 + a_{o2}c_2 + b_1c_1c_2$$

$$F_S = A_1^{II} c_1 + A_2^{II} c_2 + A_{12}^{II} c_1 c_2 \qquad (5.4)$$

wobei $A_{12}^{II} = b_1 + b_2$ bedeutet.

Sollte diese Annahme zutreffen, so müßten die Koeffizienten A_1^{II} und A_2^{II} in diesem Modell im Vergleich zu den A_1^I - und den A_2^I-Werten aus Modell I hinsichtlich der Annäherung an die Werte der Emissionskoeffizienten der reinen Komponenten eine deutliche Verbesserung darstellen. Somit wäre A_{12}^{II} ein Faktor, der der Gesamtkonzentration der beiden Komponenten Rechnung trägt. Also hätte die Erhöhung der Gesamtkonzentration eine zunehmende Abweichung des Modells II vom Modell I zur Folge, was angesichts der Vernachlässigung des Gliedes $d(\varepsilon_1c_1 + \varepsilon_2c_2)/2$ in Gleichung (4.2) durchaus plausibel erscheint.

5.2.3. Modell III

Einfluß höherer Glieder

Um in einem Versuch die Einflußfaktoren möglichst genau zu erfassen, kann es notwendig sein, bei der Berechnung der Fluoreszenzintensitäten die höheren Glieder aus der Entwicklung der Exponentialfunktion der Absorptionsbeziehung mit zu berücksichtigen. Das bedeutet, daß wenigstens das Glied $d(\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2)/2$ in Gleichung (4.2), das bisher als vernachlässigbar klein angenommen wurde, doch noch mit einkalkuliert wird. In diesem Fall werden die Teilintensitäten der Komponenten gegeben durch

$$F_1 = g\,\Phi_1\,I_o\,\varepsilon_1\,c_1\,d\left[1 - \frac{d(\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2)}{2}\right]$$

und

$$F_2 = g\,\Phi_2\,I_o\,\varepsilon_2\,c_2\,d\left[1 - \frac{d(\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2)}{2}\right]$$

Hieraus ergibt sich

$$F_1 = g\,\Phi_1\,I_o\,d\quad \varepsilon_1 c_1 - \frac{d}{2}\varepsilon_1^2 c_1^2 - \frac{d}{2}\varepsilon_2 c_2\,\varepsilon_1 c_1 \qquad (5.5)$$

$$F_2 = g\,\Phi_2\,I_o\,d\quad \varepsilon_2 c_2 - \frac{d}{2}\varepsilon_1 c_1\,\varepsilon_2 c_2 - \frac{d}{2}\varepsilon_2^2 c_2^2 \qquad (5.5a)$$

Durch Zusammenfassen der Konstanten erhält man:

$$F_1 = a_{11}c_1 + a_{12}c_1^2 + a_{13}c_1c_2 \qquad (5.6)$$

und

$$F_2 = a_{21}c_2 + a_{22}c_2^2 + a_{23}c_1c_2 \qquad (5.6a)$$

Die gemessene Gesamtintensität wird demnach

$$F_S = F_1 + F_2$$

$$= a_{11}c_1 + a_{21}c_2 + a_{12}c_1^2 + a_{22}c_2^2 +$$

$$+ (a_{13} + a_{23})c_1c_2$$

woraus sich mit den einheitlichen Bezeichnungen der Koeffizienten wie in den beiden obigen Modellen ergibt:

$$F_S = A_1^{III} c_1 + A_2^{III} c_2 \; A_3^{III} c_1^2 +$$

$$A_4^{III} c_2^2 + A_5^{III} c_1c_2 \qquad (5.7)$$

Eine Besonderheit in diesem Modell III stellen die quadratischen Terme dar. Während in den vorausgegangenen Modellen mit dem Ausbleiben einer Komponente nur noch ein Term übrig bleibt, wird der Quadratterm im Modell III nicht verschwinden! Dies ist durchaus mög-

lich, da ohnehin mit der Erhöhung der Konzentration auch ohne die zweite Komponente mit der Zunahme der üblichen Störeffekt wie Dimerisierung, Löschung, Filter-Effekt oder ähnlichem zu rechnen ist. Für sehr niedrige Konzentrationen mußte der Einfluß der Quadratkoeffizienten dementsprechend verschwindend klein sein.

Für die weiteren untersuchten drei Modelle wurde jeweils eine additive Konstante für die Berechnung der F_S-Werte eingesetzt. Diese Konstanten fungieren wie eine Art "Mischkonstanten" für die Modelle. Ihre Hinzunahme brachte allerdings keine Verbesserung im Vergleich zu den Ergebnissen der entsprechenden Modelle I bis III. Daher sind diese Modelle für die nachfolgenden Erörterungen nicht weiter berücksichtigt.

5.3. Meßergebnisse und Diskussion

Die Untersuchungen wurden unter Anregung der Gemische bei 35o nm, 36o nm, 375 nm und 386 nm, zum Teil auch bei 4o8 nm vorgenommen. Die Emissionsintensitäten wurden bei den Wellenlängen 39o nm, 4o8 nm, 447 nm, 475 nm und 5o8 nm, je nach Umständen, ermittelt. Sowohl die Anregungs- als auch die Emissionsstellen schließen

Wellenlängen ein, wo die eine oder die andere Komponente gegenüber der zweiten Komponenten dominiert sowie Fälle, wo beide als "gleichberechtigt" zu sehen sind. So emittiert Anthracen bei 39o nm und 4o8 nm allein, während bei Anregung mit 4o8 nm oder Emission bei 5o8 nm nur noch das Perylen in Betracht kommt. Es muß allerdings befürchtet werden, daß bei der Anthracenemission bei 39o nm und 4o8 nm mit höheren Fehlern zu rechnen ist, da an diesen Stellen das Perylen merkliche Absorption zeigt. Obwohl durch die gewählten Konzentrationen dieser Einfluß gering bleiben sollte, steckt er mitunter in den Ergebnissen der Modelle II und III. Damit wäre auch zu prüfen, ob trotz Perylenanwesenheit die Fluoreszenzintensitäten vom Anthracen auch bei den Wellenlängen 39o nm und 4o8 nm unbeeinträchtigt bleiben.

5.3.1. Berechnung der Koeffizienten

Da es in diesem Abschnitt prinzipiell darum geht zu zeigen, daß die gemessenen Intensitäten im Gemisch aus den Teilintensitäten der beteiligten Verbindungen bestehen, wird für die Beurteilung der aufgestellten Modelle dieses Verfahrens die Gegenüberstellung der Fluoreszenzemissionskoeffizienten der Lösungen der

einzelnen Komponenten zu denen aus den Mischungen in den Vordergrund gestellt. Je näher die für die Gemische gültigen Koeffizienten an denen der individuellen Komponenten liegen, desto besser beschreibt das sich daraus ergebende Modell die wirkliche Emission der beiden Substanzen.

Basierend auf dieser Überlegung wurden jeweils 24 synthetische Mischungen von Anthracen und Perylen bei den oben angegebenen Wellenlängen gemessen. Hier wird die Überbestimmung für die Gewinnung der Koeffizienten nicht nur durch die Zahl der Meßpunkte, sondern auch durch die erhöhte Zahl der Mischungen gegeben. Denn beispielsweise für die Auflösung des Gleichungssystems für zwei Komponenten nach Modell I genügen nur vier Messungen (d.h., für vier Gleichungen). Die Überbestimmung dieses Systems durch mehrere Mischungen dient dem Zweck, die zufälligen Fehler auszugleichen.

5.3.1.1. Auflösung der Modelle nach den Koeffizienten

Aus dem Additivitätsgesetz der Absorption ist bekannt, daß bei einem System von n Unbekannten die Messungen bei n Meßpunkten zu n Gleichungen folgender Art führen:

$$
\begin{aligned}
E_1 &= \varepsilon_{11}x_1 + \varepsilon_{12}x_2 + \ldots + \varepsilon_{1n}x_n \\
E_2 &= \varepsilon_{21}x_1 + \varepsilon_{22}x_2 + \ldots + \varepsilon_{2n}x_n \qquad (5.8) \\
&\vdots \\
E_n &= \varepsilon_{n1}x_1 + \varepsilon_{n2}x_2 + \ldots + \varepsilon_{nn}x_n
\end{aligned}
$$

die durch eine Matrix nach

$$
(E_i) = (\varepsilon_{ik})\,(x_k) \qquad \begin{matrix}(i = 1 \ldots n) \\ (k = 1 \ldots n)\end{matrix} \qquad (5.9)
$$

dargestellt werden können, wobei die E_i die gemessenen Extinktionen als Summe der Teilextinktionen der Komponenten x_k mit den Extinktionskoeffizienten ε_{ik} sind. Für die Fluoreszenzemissionskoeffizienten können wir für Modell I generell schreiben:

$$
F_{ij} = \sum F_{ijk} = \sum_{k=1}^{n} A^{I}_{ijk} c_k \qquad (5.10)
$$

Hierin bezeichnet der Index j den betrachteten Meßpunkt (Emissionswellenlänge λ_{em}) bei der Anregungswellenlänge λ_i, und der Index k die einzelnen Komponenten des Gemisches. A_{ijk} ist der Emissionskoeffizient der k-ten Komponente am j-ten Meßpunkt bei der i-ten Anregungswellenlänge.

Für i = 1 bräuchte man somit in der Regel für n Unbekannte n Gleichungen bei n Meßpunkten:

$$
\begin{aligned}
F_{11} &= A_{111}c_1 + A_{112}c_2 + \ldots + A_{11n}c_n \\
F_{12} &= A_{121}c_1 + A_{122}c_2 + \ldots + A_{12n}c_n \qquad (5.11) \\
&\vdots \\
F_{1n} &= A_{1n1}c_1 + A_{1n2}c_2 + \ldots + A_{1nn}c_n
\end{aligned}
$$

Aus Gleichung (5.11) wird durch Zusammenfassung:

$$
\begin{pmatrix} F_{11} \\ F_{12} \\ \vdots \\ F_{1n} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} A_{111} & A_{112} & \ldots & A_{11n} \\ A_{121} & A_{122} & \ldots & A_{12n} \\ \vdots & & & \\ A_{1n1} & A_{1n2} & \ldots & A_{1nn} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} c_1 \\ c_2 \\ \\ c_n \end{pmatrix} \qquad (5.11a)
$$

Entsprechende Gleichungen können für Anregung mit i = 2,3,...,n formuliert werden. Das ergibt zusammengefaßt in Matrizenschreibweise:

$$
(F_{ij}) = (A_{ijk})\ (c_k) \qquad (5.12)
$$

Die entsprechenden Gleichungen für die Modelle II und III können in ganz analoger Weise formuliert werden,

wenn man die quadratischen oder gekreuzten Terme durch zusätzliche Variablen ersetzt:

Modell II: $c_1 c_2 = c_3$

Modell III: $c_1^2 = c_3$; $c_2^2 = c_4$; $c_1 c_2 = c_5$

Entsprechend nimmt die Anzahl der erforderlichen Gleichungen auf n+1 bzw. n+3 zu. Daß die Einführung der Hilfsvariablen c_3 bis c_5 zulässig ist, ergibt sich aus dem mathematischen Ansatz der multiplen Regression (siehe Anhang).

In Gleichung (5.12) stellen die c_k jeweils einen Konzentrationsvektor dar. Um aus den Meßwerten die Koeffizienten A_{ijk} ermitteln zu können, sind mindestens n bzw. bei Modell II n+1, bei Modell III n+3 verschiedene linear unabhängige Konzentrationssysteme zu vermessen.

Führt man den Index l ein, so erhält man - in leicht modifizierter Schreibweise:

$$(F_l)_{ij} = (A_k)_{ij} \, (c_{kl})$$

Hieraus folgt für die Koeffizienten:

$$(A_k)_{ij} = (A_{ijk}) = (F_l)_{ij} \, (c_{kl})^{-1} \qquad (5.13)$$

Wenn k und l nicht identisch sind, da das Gleichungssystem überbestimmt ist, kann man die überschüssigen

Gleichungen zur Ausgleichung nach den Gaußschen Algorithmen (unter Bidlung der Rechtsinversen) benutzen (siehe Anhang).

Die erhaltenen Intensitäten der Mischungen wurden für die Berechnung der Emissionskoeffizienten, wie oben schon erwähnt wurde, eingesetzt. Diese Mischungen enthalten die Komponenten im Konzentrationsbereich von $1o^{-6}$-M bis $1o^{-8}$-M. Die daraus errechneten Emissionskoeffizienten der Komponenten für die jeweilige Anregungs- und Emissionswellenlänge und ihre Abweichungen gegenüber den reinen Komponenten sind in den Tabellen 5.1 und 5.2 zusammengefaßt. Die Koeffizienten aus den verschiedenen Modellen sind für Anthracen und Perylen zum Vergleich nebeneinander aufgeführt.

5.3.1.2. Emissionskoeffizienten für Anthracen

Wenn wir die errechneten Koeffizientenwerte für Anthracen betrachten, so zeigen sich bei Anregung der Mischungen bei λ_{an} = 35o, 36o und 375 nm keine gravierenden Abweichungen der Koeffizienten bei λ_{em} = 39o, 4o8 und 447 nm von denen des reinen Anthracens. Lediglich bei λ_{em} = 475 nm sind die Abweichungen ziemlich groß. Dies ist dadurch zu verstehen, daß die Intensitäten der Anthracen-

λ_{an} nm	j	λ_{em} nm	a_{01}	A_{ijk} (k = 1: Anthracen)					
				Mod. I	%	Mod. II	%	Mod.III	%
350 (i=1)	1	390	0,1170	0,1157	- 1,1	0,1192	+ 1,8	0,1276	+ 9,0
	2	408	0,1373	0,1383	+ 0,007	0,1399	+ 1,89	0,1401	+ 2,0
	3	447	0,0230	0,02353	+ 2,3	0,02390	+ 3,9	0,02418	+ 5,1
	4	475	0,005	0,0062	+ 25,0	0,0066	+ 32,5	0,0045	- 8,9
360 (i=2)	1	390	0,1969	0,1869	- 5,0	0,1896	- 3,7	0,1801	- 8,5
	2	408	0,2209	0,2214	+ 0,01	0,2236	+ 1,2	0,2205	0,0
	3	447	0,03795	0,03841	+ 1,2	0,0398	+ 4,7	0,04204	+ 10,7
	4	475	0,009	0,0105	+ 16,6	0,0113	+ 26,0	0,01071	+ 19,0
375 (i=3)	1	390	0,1561	0,1602	+ 1,9	0,1643	+ 4,5	0,1596	+ 1,6
	2	408	0,183	0,1799	- 1,7	0,1817	- 0,01	0,1682	- 8,1
	3	447	0,0309	0,03195	+ 3,3	0,0327	+ 5,8	0,0317	+ 2,6
	4	475	0,0078	0,00782	0,00	0,0083	+ 6,0	0,01166	+ 49,4
386 (i=4)	1	408	0,105	0,1080	+ 2,8	0,1087	+ 3,5	0,1011	- 3,7
	2	447	0,0189	0,02125	+ 12,4	0,0210	+ 10,9	0,0180	+ 4,6
	3	475	0,0054	0,0055	+ 1,7	0,0062	+ 15,1	0,0044	- 18,5

Tabelle 5.1: Zusammenstellung der Emissionskoeffizienten A_{ijk} des Anthracens, Lösungsmittel: Benzol
Partnerkomponente: Perylen

emission bei 475 nm sehr klein sind und für diese Emissionswellenlänge bei den vorliegenden Konzentrationen innerhalb der statistischen Schwankungen liegen. Auch die Erhöhung der Zahl der Regressionsglieder in den höheren Modellen ergeben keine eindeutigen Verbesserungen. Im übrigen unterscheiden sich die aus den Mischungen erhaltenen Werte kaum von den Eichkoeffizienten des reinen Anthracens. Bedenkt man ferner, daß λ_{em} = 39o und 4o8 nm noch im Absorptionsbereich des Perylens liegen, so ist die Übereinstimmung der Wertepaare des Anthracens ein Beweis dafür, daß bei unseren Meßbedingungen Filter-Effekt oder Reabsorption nicht nennenswert sind. Diese hätten eine generelle Abnahme der Anthracenemissionsempfindlichkeit im Gemisch zur Folge gehabt, was in diesem Falle nicht zutrifft. Es ist demnach durchaus möglich, auch bei Anwesenheit von Perylen, Anthracen bei λ_{em} = 39o und 4o8 nm zu bestimmen; die Anregung mit λ_{an} = 386 nm liefert keine zuverlässigen Werte für Anthracen, da Anthracen in diesem Bereich nur eine verhältnismäßig geringe Absorption hat.

λ_{an} nm	j	λ_{em} nm	a_{02}	A_{ijk} (k = 2: Perylen)					
				Mod. I	%	Mod. II	%	Mod.III	%
350 (i=1)	3	447	0,1202	0,1186	- 1,3	0,1212	0,0	0,1132	- 5,8
	4	475	0,0827	0,08036	- 2,8	0,0833	0,0	0,0825	0,0
	5	508	0,0244	0,02344	- 3,9	0,02523	+ 3,4	0,0239	- 2,2
360 (i=2)	3	447	0,1988	0,2015	+ 1,3	0,2122	+ 6,7	0,206	+ 3,6
	4	475	0,1384	0,1346	- 2,7	0,1412	+ 2,0	0,139	0,0
	5	508	0,0395	0,04086	+ 3,4	0,04066	+ 2,9	0,0371	+ 6,1
375 (i=3)	3	447	0,4323	0,4319	0,0	0,4374	+ 1,1	0,459	+ 6,1
	4	475	0,2867	0,2854	- 0,01	0,2887	0,0	0,291	+ 1,5
	5	508	0,0832	0,08096	- 2,6	0,08414	+ 1,1	0,082	0,0
386 (i=4)	3	447	0,8669	0,8439	- 2,6	0,8411	- 2,9	0,884	+ 1,9
	4	475	0,55808	0,5568	0,0	0,562	0,0	0,574	+ 2,8
	5	508	0,1572	0,1559	0,0	0,157	0,0	0,1603	+ 1,9
408 (i=5)	3	447	2,008	1,964	- 2,2	1,948	- 3,0	1,955	- 2,7
	4	475	1,1829	1,248	- 5,5	1,237	- 4,5	1,268	- 7,1
	5	508	0,353	0,3426	- 2,9	0,3456	- 2,0	0,3471	- 1,6

Tabelle 5.2: Zusammenstellung der Emissionskoeffizienten A_{ijk} des Perylens, Lösungsmittel: Benzol
Partnerkomponente: Anthracen

5.3.1.3. Emissionskoeffizienten für Perylen

Die entsprechenden Koeffizientenwerte für Perylen sind in Tabelle 5.2 zusammengestellt. Die Perylenemission bei 39o nm und 4o8 nm ist nicht meßbar und wird deshalb nicht berücksichtigt. Die gemeinsame Anregung der beiden Komponenten bei 35o nm, 36o nm, 375 nm und 386 nm erlaubt auch die Berechnung der Perylenemissionskoeffizienten und damit die der Teilintensitäten von Perylen in dem Gemisch. Die Abweichungen von den Werten, die an reinem Perylen erhalten wurden, sind auch für alle Anregungswellenlängen ziemlich klein. Die verschiedenen Werte aus den Modellen unterscheiden sich kaum. Im Durchschnitt liegen aber die Werte der Koeffizienten aus Modell I näher an den Werten der reinen Komponenten als die der übrigen Modelle.

5.3.1.4. Vergleich der Modelle

Wie ein Blick auf die Koeffizientenwerte zeigt, liegen die Ergebnisse der Regressionsmodelle ziemlich in den gleichen Abweichungsbereichen im Vergleich zu den Koeffizienten der reinen Komponenten. Die höheren Modelle bringen keineswegs bessere Ergebnisse für die

Emissionskonstanten. So müssen für die Vergleiche andere Kriterien herangezogen werden. Als gebräuchlichstes Maß für die Qualität eines Analysenverfahrens bedient man sich in der Analytik oft des Schätzwertes der Standardabweichung. Für die Beurteilung verschiedener Modelle aus dem gleichen Datenmaterial kann auch die Reststreuung der Werte gegenüber dem Regressionsmodell herangezogen werden. Wir bedienen uns dieses Maßes nicht nur für die Vergleiche der Modelle untereinander, sondern auch zugleich zur Beurteilung der optimalen Anregungs- und Emissionswellenlängen für die Mischungen. Für annähernd objektive Vergleiche der Anregungs- und Meßstellen haben wir - da die Absolutwerte der Reststreuung aus der Summe der Abweichungsquadrate ein verzerrtes Bild geben - statt der Reststreuungswerte aus der Regressionsanalyse die daraus berechneten relativen Schätzwerte $\overline{RS}$ der Streuung, gegeben durch

$$\overline{RS} = \frac{RS}{\overline{F}}$$

als ein Vergleichsmaß verwendet. Hierin sind RS die Reststreuung und $\overline{F} = F/n$ die mittleren, aus der Regression entnommenen Intensitäten bei n Mischungen.

Die Abbildungen 5-4 bis 5-6 zeigen die Auftragung der

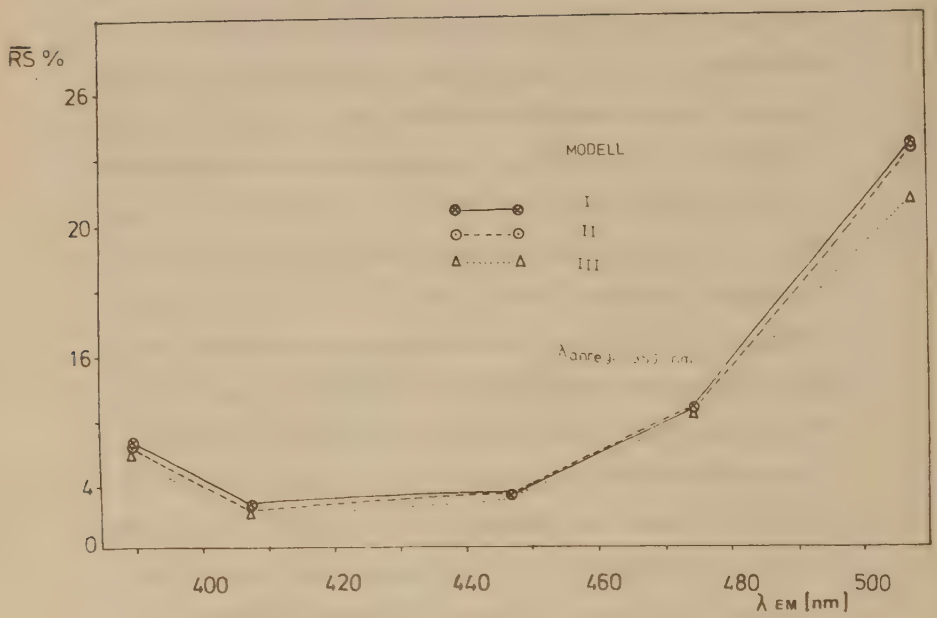


Abbildung 5-4: Relative Schätzwerte der Reststreuung der Modelle gegen die Emissionswellenlänge
Anregung: 35o nm
(Komponenten: Anthracen und Perylen)

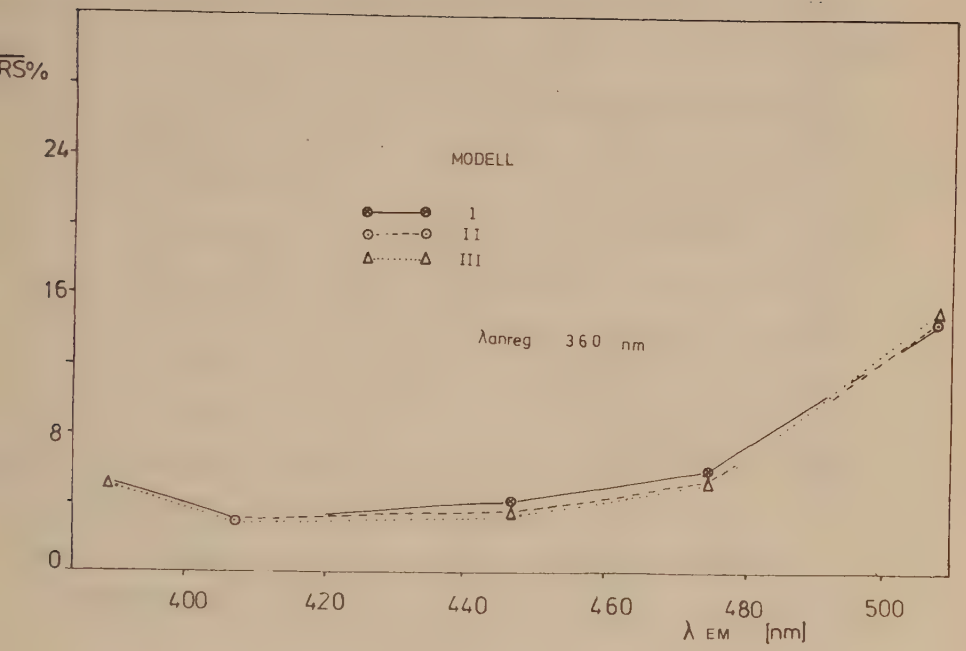


Abbildung 5-5: Relative Schätzwerte der Reststreuung der Modelle gegen die Emissionswellenlänge
Anregung: 360 nm
(Komponenten: Anthracen und Perylen)

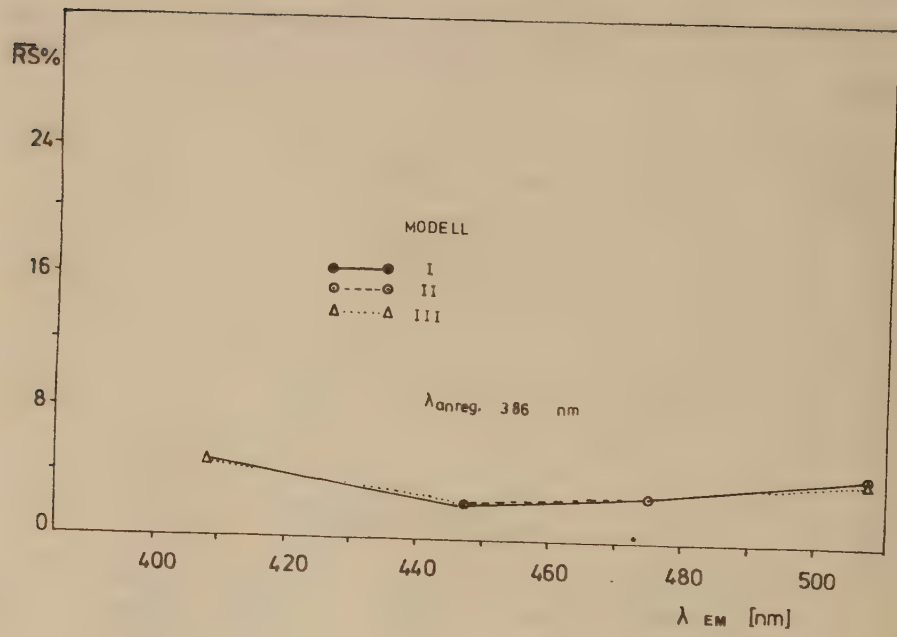


Abbildung 5-6: Relative Schätzwerte der Reststreuung der Modelle gegen die Emissionswellenlänge
Anregung: 386 nm
(Komponenten: Anthracen und Perylen)

$\overline{RS}$-Werte gegen die Emissionswellenlänge für verschiedene Anregungen. Die römischen Ziffern numerieren jeweils die Regressionsmodelle. Die deutliche Übereinstimmung der drei Modelle besagt, daß sich keine eindeutige Verbesserung der Streukoeffizienten durch die höheren Regressionsglieder erkennen läßt. Die Streuungsanalyse nach Fischer (F-Test) ist im Anhang in Tabelle 7.1 zusammengestellt. Durch die Ergebnisse aus dieser Streuungsanalyse und die Werte der Emissionskoeffizienten kann angenommen werden, daß das Modell I ohne weitere Annahmen die Additivität der Teilfluoreszenzintensitäten genügend genau beschreibt. Die typischen Regressionsgeraden aus den Modellen (siehe Abbildung 5-7) fallen weitgehend zusammen. Die weitere Erörterung der Ergebnisse wird daher nur mit Modell I erfolgen.

Die Frage der optimalen gemeinsamen Anregungswellenlänge für beide Komponenten wird auch in diesem Zusammenhang beantwortet. Ein Vergleich der Abbildungen 5-4 bis 5-6, in Abbildung 5-8 zusammengetragen, zeigt deutlich, daß, je höher die Extinktion der beiden Komponenten ist, desto besser die Streuung wird. Dies hängt damit zusammen, daß höhere Extinktionen höhere Fluoreszenzintensitäten hervorrufen und wird auch bestätigt durch die Tatsache, daß bei den Wellenlängen λ_{em} = 408 nm, wo Anthracen die höchste Fluoreszenzintensität besitzt, und bei λ_{em} = 447 nm, wo auch Perylen die intensivste Emission zeigt, nicht nur die Streuungsergebnisse am

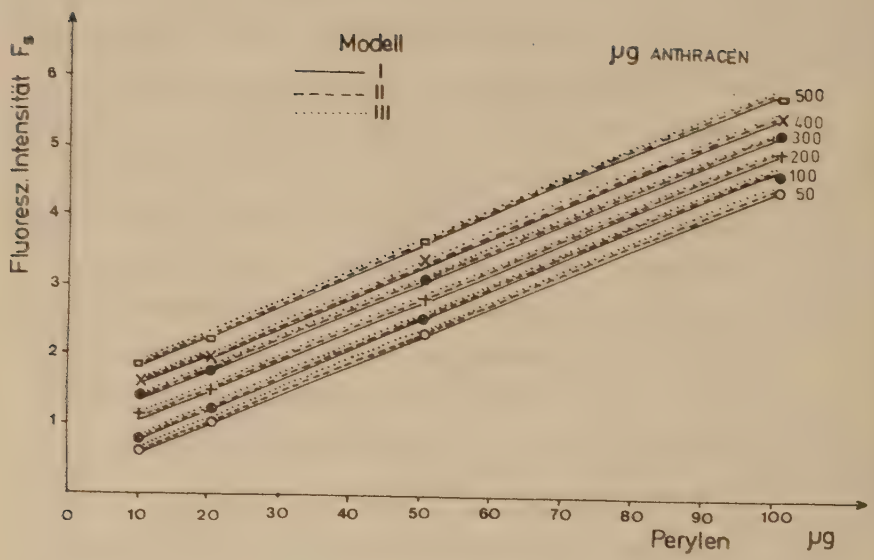


Abbildung 5-7: Regressionsgeraden aus den verschiedenen Modellen

Anregung: 375 nm
Emission: 447 nm

(Komponenten Anthracen und Perylen)

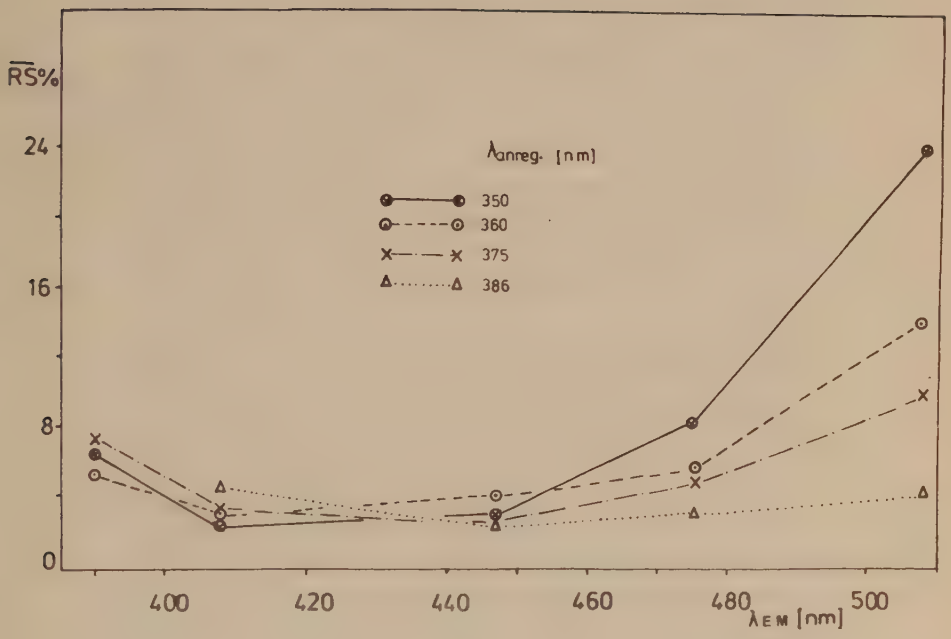


Abbildung 5-8: Vergleich der Reststreuungen der verschiedenen Wellenlängen (aus Modell I)

besten liegen, sondern auch die Abweichungen der Emissionskoeffizienten von denen der reinen Komponenten niedrig sind (vergleiche Tabelle 5.1 und 5.2). Die intensivste Emissionsüberlappung bei λ_{em} = 447 nm zeigt sehr gute Ergebnisse für beide Verbindungen, unabhängig von der Tatsache, daß das Perylenfluoreszenzspektrum im Gegensatz zu Anthracen bei 447 nm die höchste Intensität aufweist. Das optimale Ergebnis, sowohl hinsichtlich der Emissionskoeffizienten als auch der Streuungsanalyse, ergibt sich bei den Anregungen mit λ_{an} = 375 nm. Es stellt sich heraus, daß die beiden Mischkomponenten Anthracen und Perylen annähernd gleiche Extinktionskoeffizienten (85oo $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$) aufweisen und damit bei dieser Wellenlänge gleich stark angeregt werden. Hier bietet sich die optimale Beteiligung der Teilintensitäten an der Gesamtintensität - eine Art maximale Additivität - an. So gilt für dieses Verfahren: Je mehr sich die Extinktionskoeffizienten der Komponenten aneinander angleichen und je größer die Überlappung ist, desto besser werden die Ergebnisse.

5.3.1.5. Beziehung der Emissionskoeffizienten zu den Anregungs- und Emissionswellenlängen

Obwohl zwischen den Mischkoeffizienten und den Emissionskoeffizienten der reinen Komponenten eine gute Übereinstimmung herrscht, muß noch geprüft werden, ob diese Koeffizienten wirklich die Emissionsempfindlichkeit der Verbindungen darstellen. Aus der Ableitung der Gleichung 5.1 für die Gesamtintensität ist zu ersehen, daß in den Koeffizienten A_1 und A_2 (Anthracen und Perylen) die Komponentencharakteristika, wie Extinktionskoeffizienten und die Fluoreszenzquantenausbeute, enthalten sind. Damit drücken die Emissionskoeffizienten in gewisser Weise auch die Absorptionskoeffizienten aus. Demzufolge müßte die Auftragung der ermittelten Emissionskoeffizienten gegen die Anregungswellenlänge eine Kurve ergeben, die - bis auf einen konstanten Faktor - mit dem Absorptionsspektrum der Verbindungen an den gemessenen Stellen identisch ist. In Abbildung 5-9 ist diese Auftragung für das Anthracen wiedergegeben. Die Kurven zeigen weitgehend den Verlauf des Anthracenabsorptionsspektrums im Anregungsbereich. Die Auftragung der Konstanten A_1 gegen die Emissionswellenlängen ergeben, wie in Abbildung 5-1o gezeigt wird, analog dazu die entsprechenden, dem Anthracenfluoreszenzspektrum ähnlichen Kurven.

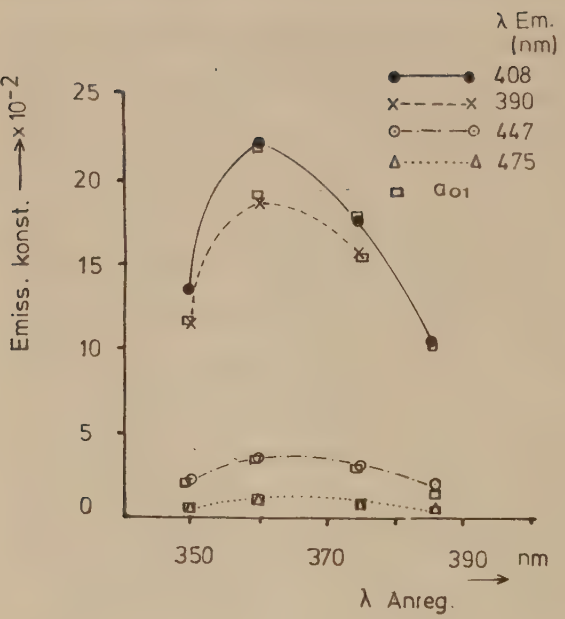


Abbildung 5-9: Zusammenhang zwischen den Emissionskoeffizienten aus dem Gemisch und den Anregungswellenlängen bei verschiedenen Emissionswellenlängen für Anthracen A_{ij1}

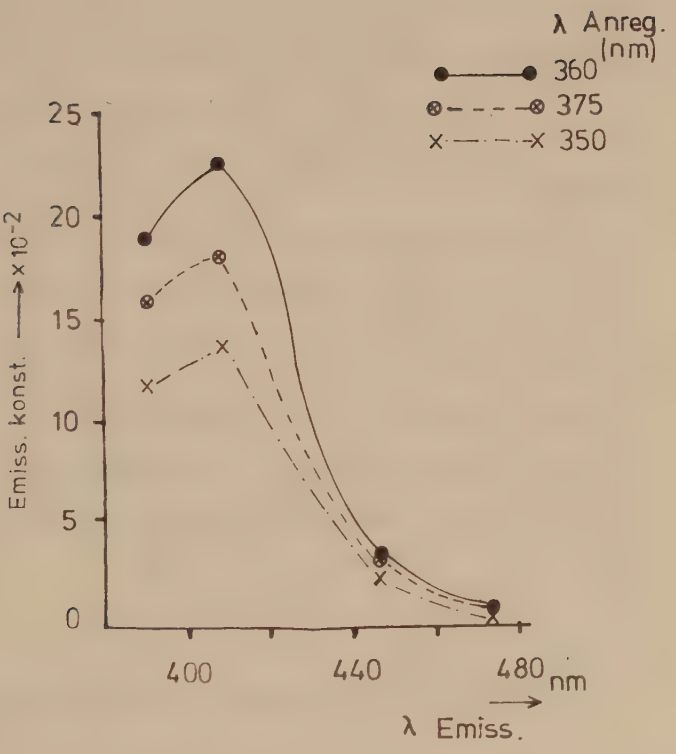


Abbildung 5-1o: Zusammenhang zwischen den Emissionskonstanten aus dem Gemisch und den Emissionswellenlängen bei verschiedenen Anregungen für Anthracen A_{ij1}

Für Perylen sind die entsprechenden Kurven in Abbildung 5-11 und 5-12 dargestellt. Wie zu ersehen ist, passieren beide Kurventypen für Anthracen ein eindeutiges Maximum. Bei Perylen ist dies der Fall nur bei der Kurve für die Emissionskoeffizienten mit den Emissionswellenlängen, während die Beziehung gegen die Anregungswellenlänge nur die Flanken zeigen. Ein Blick auf das Absorptionsspektrum des Perylens zeigt auch, daß der Verlauf mit den Anregungswellenlängen auf der kurzwelligen Flanke der Perylenabsorptionsbande dem Maximum bei 41o nm entspricht. Auch die eingezeichneten a_{o1}- und a_{o2}-Werte der reinen Komponenten zeigen die Qualität der Übereinstimmung. Der Zusammenhang zwischen Emissions- und Extinktionskoeffizienten wird in Abschnitt 5.3.3. behandelt.

5.3.2. Graphische Ermittlung der Emissionskoeffizienten

Ähnlich wie bei den absorptionsspektroskopischen Methoden kann bei zwei Komponenten die Auswertung der Mehrkomponentenanalyse graphisch erfolgen. Aus Modell I

$$F_1 = A_{11}c_1 + A_{12}c_2$$

erhält man mit den Konzentrationsbrüchen

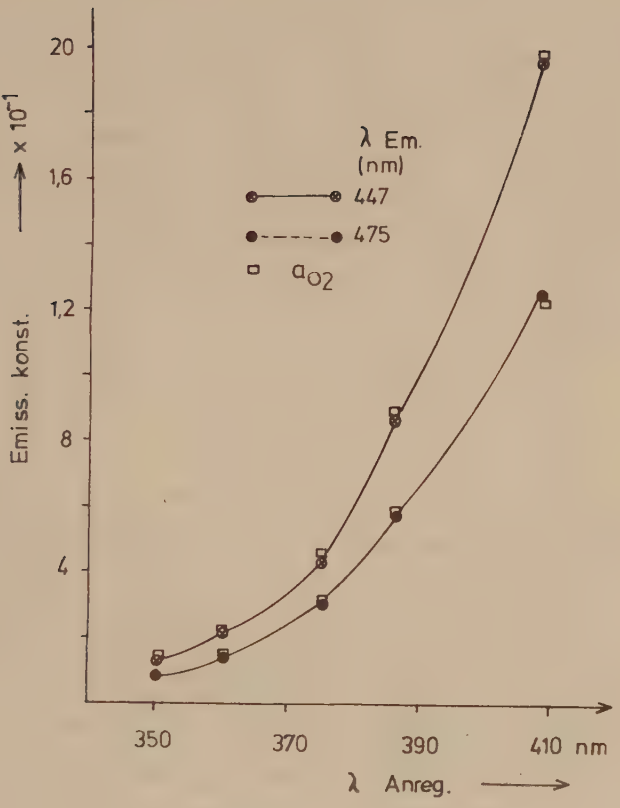


Abbildung 5-11: Zusammenhang zwischen den Emissionskoeffizienten aus dem Gemisch und den Anregungswellenlängen bei verschiedenen Emissionen für Perylen A_{ij2}

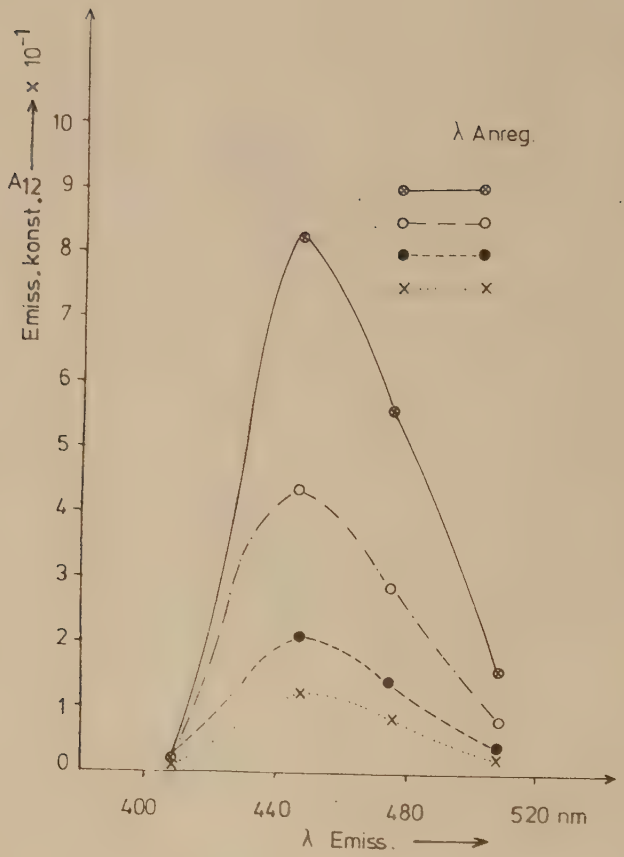


Abbildung 5-12: Zusammenhang zwischen den Emissionskoeffizienten aus dem Gemisch und den Emissionswellenlängen bei verschiedenen Anregungswellenlängen für Perylen A_{ij2}

$$\gamma_1 = \frac{c_1}{c_g} \quad ; \quad \gamma_2 = \frac{c_2}{c_g} \quad ; \quad (c_g = c_1 + c_2)$$

$$\gamma_1 = \frac{c_1}{c_g} = \frac{F_1/c_g - A_{12}}{A_{11} - A_{12}} \tag{5.14}$$

$$\frac{F_1}{c_g} = A_{12} + (A_{11} - A_{12})\gamma_1 \tag{5.14a}$$

Gleichung (5.14a) ist ein lineares Modell, dessen Achsenabschnitte die Emissionskonstanten der beiden Komponenten darstellen. Die Neigung ergibt sich aus deren Differenz. Anhand der intensivsten Anregungen bei der höchsten Überlappung wird diese Beziehung in Abbildung 5-13 demonstriert. Die Koeffizienten lassen sich leicht aus den Abschnitten ermitteln.Die gute Übereinstimmung der Meßdaten mit dem erwarteten Verlauf spricht - wie bereits die Angaben der Tabellen 5.1 und 5.2 - für die Brauchbarkeit des angenommenen Modells.

Die Koeffizienten für Anregungen mit λ_{an} = 350, 360 und 375 nm, die aus den entsprechenden Ausgleichsgeraden erhalten wurden, sowie die Korrelationskoeffizienten sind in Tabelle 5.3 für λ_{em} = 447 nm zusammenge-

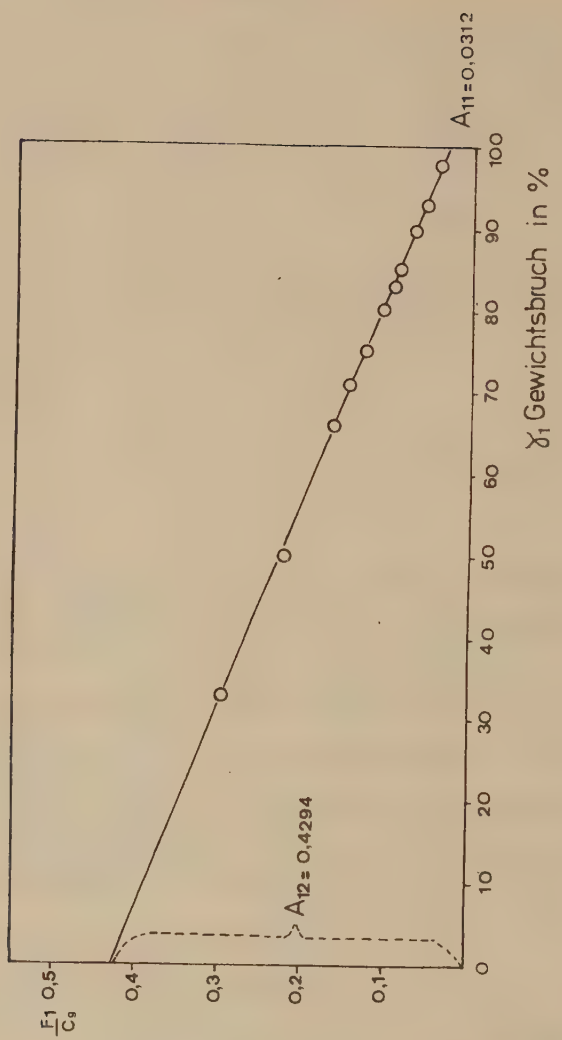


Abbildung 5-13: Graphische Auswertung der Emissionskonstanten eines Zweikomponentensystems

Anthracen A_{11} (Y_1), Perylen A_{12} (Y_2)

Anregung: 375 nm

Emission: 447 nm

Anregung: λ (nm)	A_{11g}	A_{12g}	$(A_{11g}-A_{12g})$	Korrel.koeff. r
350	0,0234	0,119	- 0,096	0,997
360	0,0381	0,199	- 0,162	0,998
375	0,0312	0,4294	- 0,398	0,999

Tabelle 5.3: Emissionskonstanten aus der graphischen Auswertung für λ_{Em} = 447 nm
A_{11g} = Emiss. konst. für Anthracen
A_{12g} = Emiss. konst. für Perylen

Anregung: λ (nm)	A_{01}	A_{11}	A_{11g}	A_{02}	A_{12}	A_{12g}
350	0,0230	0,0235	0,0234	0,120	0,118	0,119
360	0,0379	0,0384	0,0381	0,198	0,201	0,199
375	0,0309	0,0319	0,0313	0,432	0,431	0,429

Tabelle 5.4: Vergleich der Emissionskonstanten aus den reinen Komponenten, aus der Multiplen Regression und aus der graphischen Auswertung der Mischintensitäten bei λ_{Em} = 447 nm.

stellt. Die sehr gute Korrelation läßt erkennen, daß diese Methode, d.h., die lineare Zweikomponentenanalyse, also genau so gut funktioniert wie bei der Absorption. In Tabelle 5.4 sind die ermittelten Koeffizienten aus

a. den reinen Komponenten,
b. den multiplen Regressionen der Mischungen, und
c. den graphischen Auswertungen der Mischkomponenten

zum Vergleich zusammengefaßt.

Die sehr gute Übereinstimmung der drei Werteserien ist ein eindeutiger Beweis der reinen Additivität der Fluoreszenzintensitäten der beiden Komponenten und demonstriert die Fähigkeit dieses Verfahrens zur Mehrkomponentenanalyse. Einige mit den Emissionskoeffizienten ausgeführte Bestimmungen aus Analysenwerten der Mischkomponenten sind in Tabelle 5.5. aufgeführt. Sie zeigen, daß Anthracen und Perylen durch Mehrkomponentenanalyse mit der Fluoreszenzmethode bestimmt werden können. Die durchschnittlichen relativen Fehler liegen praktisch überall unter 5 %.

5.3.3. Beziehung der Emissionskoeffizienten zu den Extinktionskoeffizienten

Wie oben bereits gezeigt wurde, gehen die Extinktionskoeffizienten der Komponenten in die Emissionskoeffi-

λ_{An} λ_{Em}	ANTHRACEN			PERYLEN		
	Einwaage µg/100 ml	Gefunden µg/100 ml	Abw. %	Einwaage µg/100 ml	Gefunden µg/100 ml	Abw. %
360/447 375/447	400	398,7	- 0,3	100	100,0	0,0
360/447 360/475	400	399,6	- 0,1	100	100,0	0,0
350/447 375/447	500	476,7	- 4,6	100	101,1	1,1
375/447 375/475	500	512,4	+ 2,4	100	98,4	- 1,5
375/447 360/447	300	282,7	- 5,7	100	101,8	+ 1,8

Tabelle 5.5: Bestimmung der Konzentrationen von Anthracen und Perylen mit den Emissionskoeffizienten in Benzol

zienten A_{11} und A_{12} ein. Naturgemäß sollten die Emissionskoeffizienten eine Funktion der Extinktionskoeffizienten bei derselben Wellenlänge sein. Eine Auftragung der Emissionskonstanten gegen die Extinktionskoeffizienten stellt, wie Abbildung 5-14 und 5-15 für Anthracen und Perylen zeigen, eine Gerade dar. Es ist danach möglich, durch Eichung die Emissionskoeffizienten für bestimmte Extinktionskoeffizienten aus einer Eichkurve zu ermitteln oder auch umgekehrt, aus gemessenen Emissionskoeffizienten den entsprechenden Extinktionskoeffizienten abzulesen.

5.3.3.1. Unterschiedlicher Einfluß des Lösungsmittels

Beim Betrachten der Emissions-/Extinktionskoeffizientengeraden muß man in diesem Zusammenhang feststellen, daß die Geraden von Anthracen und Perylen unterschiedlich verlaufen. Während beim Perylen die Geraden - wie zu erwarten - durch den Nullpunkt verlaufen, schneiden sich die Geraden von Anthracen in einem Pol mit negativem Extinktionskoeffizienten. Eine Erklärung dieses Verhaltens beim Anthracen kann im Rahmen dieser Arbeit nicht erfolgen. Es wurden jedoch Kontrollmessungen mit reinem Anthracen in Benzol ohne Perylen durchgeführt. Auch diese zeigen dasselbe Resultat. Es ist damit aus-

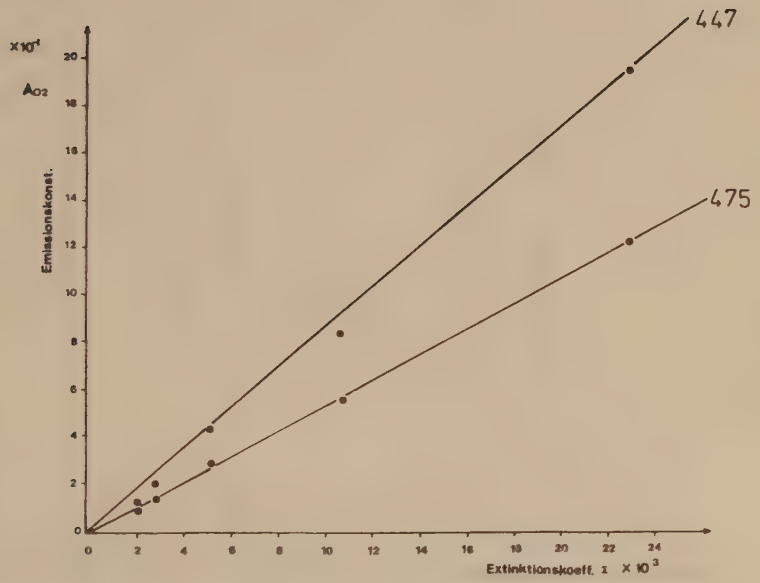


Abbildung 5-14: Emissionskoeffizienten als Funktion der Extinktionskoeffizienten
Perylen
Lösungsmittel: Benzol

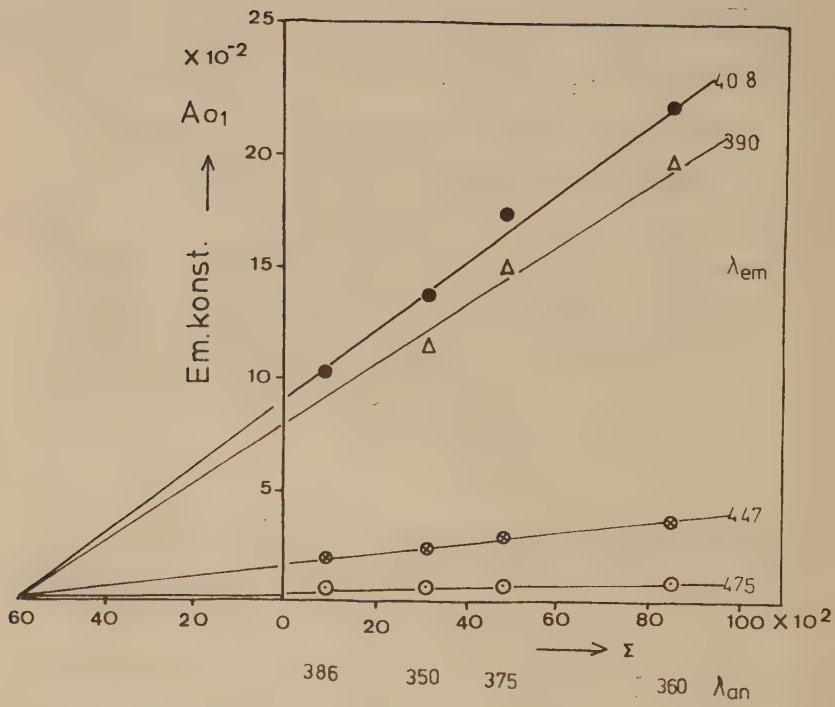


Abbildung 5-15: Emissionskoeffizienten als Funktion der Extinktionskoeffizienten

Anthracen

Lösungsmittel: Benzol

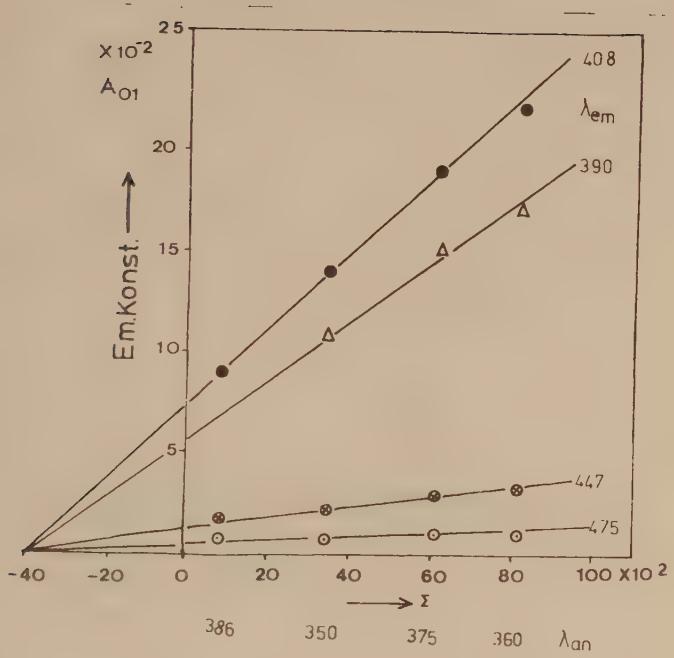


Abbildung 5-16: Emissionskoeffizienten als Funktion der Extinktionskoeffizienten für Anthracen: Einfluß des Lösungsmittels Lösungsmittelgemisch: Cyclohexan/ Benzol (3o : 7o)

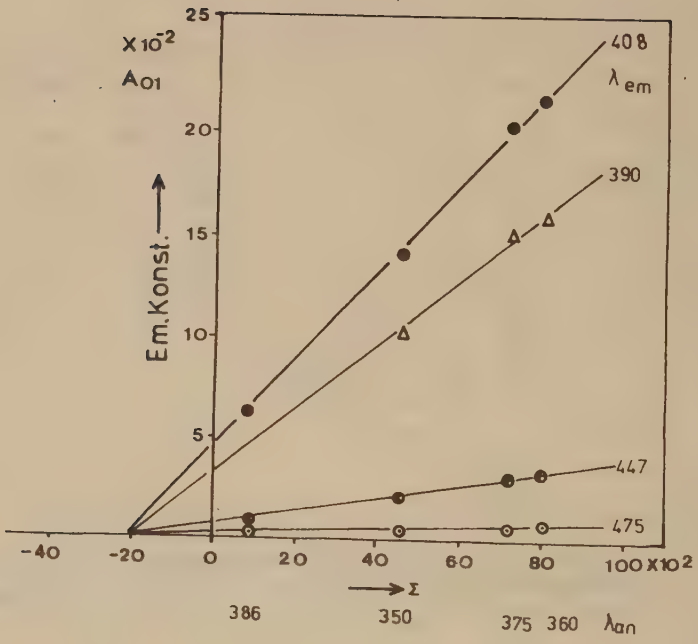


Abbildung 5-17: Emissionskoeffizienten als Funktion der Extinktionskoeffizienten für Anthracen: Einfluß des Lösungsmittels Lösungsmittelgemisch: Cyclohexan/ Benzol (6o : 4o)

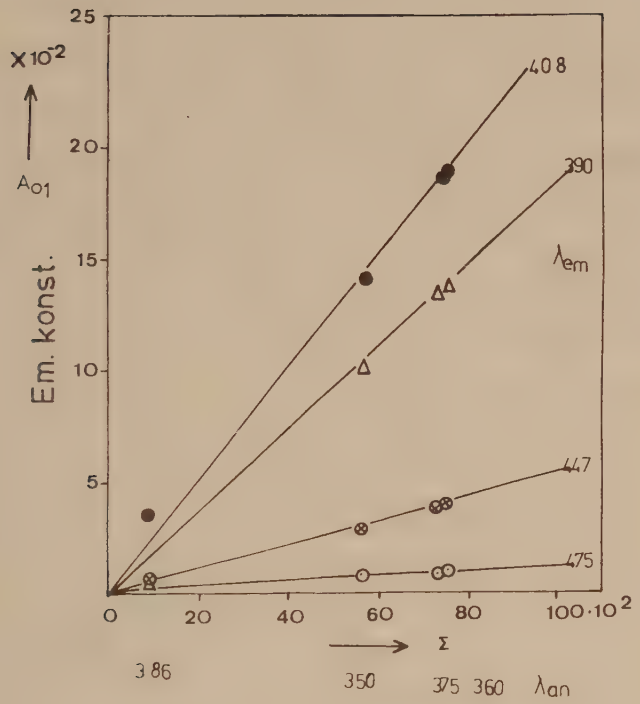


Abbildung 5-18: Emissionskoeffizienten als Fdnktion der Extinktionskoeffizienten für Anthracen: Einfluß des Lösungsmittels
Lösungsmittel: Cyclohexan

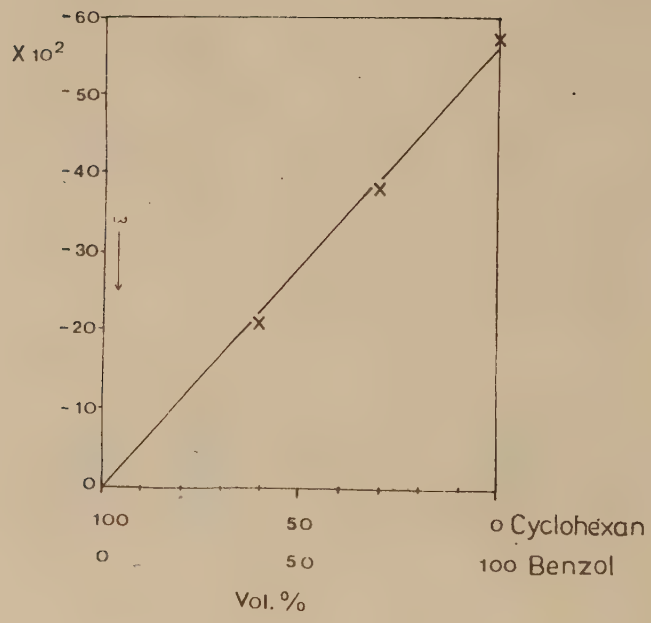


Abbildung 5-19: Einfluß des Lösungsmittels (Benzol) auf die Emissions/Extinktions-Beziehung. Auftragung des Polabstandes vom Nullpunkt gegen den prozentualen Benzolgehalt

zuschließen, daß diese Erscheinung durch die Anwesenheit von Perylen verursacht wurde.

Sie kann daher nur durch die Natur des Anthracens oder des Lösungsmittels bedingt sein. Dem Einfluß des Lösungsmittels wurde nachgegangen, indem die Anthracenfluoreszenzmessungen in Cyclohexan wiederholt wurden. Die Geraden gehen in diesem Fall durch den Nullpunkt! Somit wurde der Verdacht erhärtet, daß dieses Anthracenverhalten durch das Lösungsmittel Benzol herbeigeführt wurde. Durch die Bestimmung in Lösungsmittelgemischen aus Benzolund Cyclohexan ist ersichtlich, daß sich der Pol dem Nullpunkt entgegen bewegt (vergleiche Abbildung 5-15 und 5-18). Diese Bewegung der Pole durch Erhöhung des Cyclohexananteiles ist in Abbildung 5-19 graphisch dargestellt. Es zeigt eindeutig einen linearen Zusammenhang zwischen den prozentualen Benzolmengen und dem Abstand des Schnittpunktes vom Nullpunkt, was den Einfluß von Benzol auf die Anthracenfluoreszenz klar erkennen läßt. Bei jedem Lösungsmittelsystem müssen also die Extinktionskoeffizienten des Anthracens für die Anregungswellenlängen jeweils bestimmt werden.

5.3.4. Vergleich der Emissionskonstanten mit den Fluoreszenzspektren

Zum Schluß dieser Betrachtung werden die berechneten Emissionskonstanten aus den Gemischen mit den Intensitäten der Fluoreszenzspektren der jeweiligen reinen Substanzen verglichen. Bei jedem Fluoreszenzspektrum einer reinen Substanz bleibt das Verhältnis der Intensitäten zweier Peakhöhen konstant, unabhängig von der Anregungswellenlänge oder der Substanzkonzentration. D.h., daß, wie in dem Schema (Abbildung 5-2o) gezeigt, das Verhältnis der Intensitäten I_A/I_B konstant ist, wobei I_A und I_B die Intensitäten bei beliebigen Meßpunkten A und B sind.

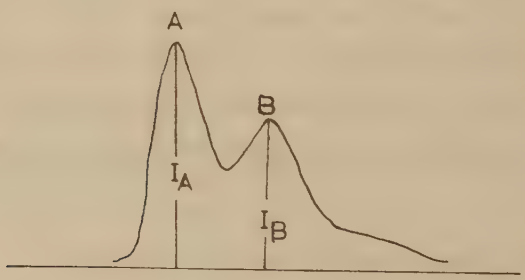


Abbildung 5-2o: Schema zweier Spektralintensitäten A und B

ANTHRACEN:

Anregung λ (nm)	Verhältnisse $\lambda_{Em}408/\lambda_{Em}447$	
	Intensitäten aus reinem Spektrum	Emissionskonst. aus den Gemischen
350	5,96	5,88
360	5,82	5,76
375	5,92	5,71
386	5,50	5,30

PERYLEN:

Anregung λ (nm)	Verhältnisse $\lambda_{Em}408/\lambda_{Em}447$	
	Intensitäten aus reinem Spektrum	Emissionskonst. aus den Gemischen
350	1,46	1,48
360	1,43	1,48
375	1,50	1,51
386	1,55	1,51

Tabelle 5.6: Vergleich der Verhältnisse aus den reinen Fluoreszenzspektren mit den entsprechenden Emissionskoeffizienten aus den Gemischen

Das bedeutet, daß auch das Verhältnis der aus den Mischungen ermittelten Emissionskoeffizienten A_A/A_B konstant und gleich den Verhältnissen in den reinen Fluoreszenzspektren sein sollte.

In Tabelle 5.6 sind die Intensitätsverhältnisse I_A/I_B im Vergleich zu denen der Emissionskonstanten A_A/A_B für Anthracen und Perylen aufgeführt. Die Übereinstimmung ist ein zusätzlicher Beweis dafür, daß jede Komponente nur mit eigener Fluoreszenz an der Mischfluoreszenz beteiligt ist und demnach durch ihre anteilige Emission bestimmt werden kann.

6. Zusammenfassung

Es war die Aufgabe gestellt, die Additivität der Fluoreszenz bei Spurenanalysen polycyclischer Aromaten zu untersuchen und die Möglichkeit ihrer Anwendung in der Mehrkomponentenanalyse zu prüfen.

In der vorliegenden Arbeit wurde am Beispiel von Perylen die Fluoreszenzadditivität der Aromaten bestimmt. Dabei wurde im Arbeitsbereich $c < 10^{-6}$ mol/l die Analyse des Perylens in Gegenwart verschiedener Begleiter, die in Mineralöl zugegen sind, durchgeführt.

Die Fluoreszenzbestimmung der Aromaten neben Fremdmolekülen wird oft u.a. durch Löschung, Filter-Effekt oder Sensibilisierung beeinträchtigt. In diesem Zusammenhang wurde durch eine Reihe von Untersuchungen die Fragestellung unter folgenden Aspekten behandelt:

1. Der Einfluß der hochkettigen paraffinischen Kohlenwasserstoffe, sowohl in der Menge als auch in der Kettenlänge, auf die Fluoreszenzemission von Perylen wurde geprüft. Es wurde festgestellt, daß ihre Störeffekt vernachlässigbar sind.

2. Durch Bestimmung von Perylen in den verschiedenen Kohlenwasserstoffgruppen der Zonen einer mit Fluoreszenzindikator-Absorptionsmethode getrenn-

ten Mineralölprobe wurde der Einfluß dieser Gruppen auf die Perylenbestimmung geprüft. Dabei wurde die "FIA"-Methode sowohl hinsichtlich ihrer Trennfähigkeit für die Kohlenwasserstoffgruppen als auch ihres Verdrängungsvermögens für die Aromaten getestet*).

Obwohl die aus der FIA-Bestimmung zurückgewonnenen Perylenmengen nur etwa 9o % der Einwaage enthielten, ergab sich ein linearer Zusammenhang zwischen den Summen der gemessenen Intensitäten und der Perylendotierung der FIA-Säule.

3. Anhand der Korrelation der Intensitäten mit der Perylendotierung wurde durch die Methode der "Standard-Addition" die Bestimmung von Perylen in nicht getrenntem Mineralöl durchgeführt.

   Durch eine experimentell erhärtete lineare Beziehung

$$F_S = M \cdot c + K$$

   wurde K als Perylenäquivalent des Öls und M als die Perylenfluoreszenzempfindlichkeit der Ölprobe bestimmt.

---

*) Es zeigt sich, daß die polycyclischen Aromaten zwar partiell in den vorderen bzw. hinteren Fraktionen der Aromaten angereichert werden, ohne daß jedoch die Trennleistung analytisch brauchbar war.

Da die Konstante K die Eigenfluoreszenz der Mineralölprobe beschreibt - K weist eine direkte lineare Korrelation zu den Öleinwaagen auf -, war die oben angegebene Beziehung ein Ausdruck für die Additivität der Fluoreszenzemission von Perylen und dem Mineralöl.

4. In eingehenden Untersuchungen wurde am Beispiel von Anthracen- und Perylenmischungen die Additivität der Fluoreszenzintensitäten untersucht. Mit Rechenmodellen wurden die Emissionskoeffizienten von Anthracen und Perylen mittels multipler Regressionsanalyse ermittelt. Durch Vergleich der Modelle wurde festgestellt, daß das Modell mit der reinen Fluoreszenzadditivität der Komponenten die Mischintensitäten genügend genau beschreibt. Es gilt:

$$(F_l)_{ij} = (A_k)_{ij} \cdot (c_{kl})$$

für die Mehrkomponentenfluoreszenzintensität.

Auch durch Vergleiche der Emissionskoeffizienten aus der Eichung der reinen Komponenten und der Emissionskoeffizienten aus Gemischen ist mit der sehr guten Übereinstimmung der Beweis erbracht, daß jede Komponente störungsfrei an der Mischfluoreszenzintensität beteiligt ist, wodurch sie bestimmt werden kann.

Die Voraussetzung für die Anwendung der fluoreszenzspektroskopischen Mehrkomponentenanalyse ist (wie bei der Absorption die Extinktionskoeffizienten) die Kenntnis der Fluoreszenzkoeffizienten der reinen Komponenten. Diese Emissionskoeffizienten, die für das gleiche Gerät und die Meßanordnung konstant sind, können bestimmt werden und für die quantitative Bestimmung der Komponenten im Gemisch eingesetzt werden.

Zusammenfassend läßt sich damit sagen, daß solange die Störeffekte, wie Löschung, Filter-Effekt, Eximerenbildung oder Sensibilisierung, minimal gehalten werden, die Additivität der Fluoreszenzemission eine wertvolle Anwendung in der Mehrkomponentenanalyse der Aromaten finden kann.

7. Anhang

7.1. Experimentelles

7.1.1. Herkunft und Prüfung der verwendeten Substanzen

Folgende Substanzen und Lösungsmittel sind bei den Untersuchungen verwendete worden:

Substanz	Reinheit	Herkunft
Anthracen	99,9 %	Aldrich Chem. Co., Milwaukee, USA
Perylen	purum	Fluka AG, Buchs SG, Schweiz
Benzol	99,7 % (Uvasol)	E. Merck AG, Darmstadt
Cyclohexan	99,7 % (Uvasol)	E. Merck AG, Darmstadt
Cetan ($C_{16}H_{34}$)		Aral AG, Bochum
Eikosan ($C_{20}H_{42}$)	95 %	Veba AG, Gelsenkirchen
Triacontan ($C_{30}H_{62}$)	95 %	
Pentatriacontan ($C_{35}H_{72}$)	95 %	
Grundöl	48,5 % Gesättigte 40,1 % Aromaten	[53] Provenienz: Nigeria Aral AG, Bochum
Isopropanol	für Chromatographie	Riedel-de-Haen AG, Seelze - Hannover

Polycyclische Aromaten unterliegen oft chemischen Veränderungen, wenn sie längere Zeit unter Licht- oder Sauerstoffeinwirkung stehen. Deshalb wurde die Reinheit von Anthracen und Perylen durch Gaschromatographie*) und Massenspektrometrie **) geprüft. Verunreinigungen waren in beiden Fällen nicht nachweisbar.

7.2. Aufnahmetechnik und Auswertung

Sämtliche Fluoreszenzmessungen wurden mit dem Aminco-Bowman-Spektrofluorometer (SPF) 4-8202 der Firma American Instrument Co., INC., Silver Springs, Maryland, (USA), durchgeführt. Die technischen Daten dieses Gerätes sind in dem Aminco Bulletin 2392-F angegeben, auf das hier verwiesen wird. Die Arbeitsweise ist in Abbildung 7-1 wiedergegeben. Eine Xenon-Hochdrucklampe S liefert ein Kontinuum im Bereich von 200 nm bis 800 nm. Die Anregungsstrahlung passiert über einen Monochromator Gitter-Monochromator M_1 ein System von Blenden, ehe sie in den Probenraum gelangt. Die emittierte Strahlung wird über den Emissionsmonochromator M_2 über ein zweites Blendensystem auf den Strah-

---

*) Für die Reinheitskontrolle sei an dieser Stelle folgenden Herrschaften gedankt: Herrn Dr. G. Rolle und Frau H. Berner für die Gaschromatographie und

**) Herrn Dr. D. Müller für die Massenspektrometrie

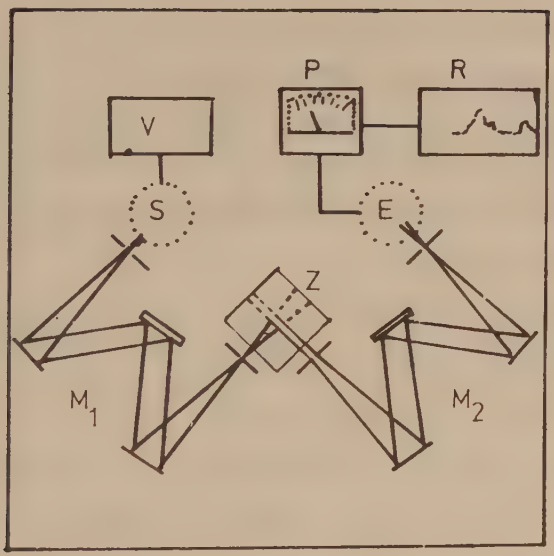


Abbildung 7-1: Aminco-Bowman-Spektrofluorometer

V = Spannungsquelle
S = Xenonlampe
M_1= Anregungsmonochromator
Z = Meßzelle
M_2= Emissionsmonochromator
E = Empfänger (SEV)
P = Photometer
R = Schreiber

lungsempfänger (SEV) geführt. Das Signal wird durch einen Differenzverstärker angezeigt und mit einem X/Y-Kompensationsschreiber registriert.

Zur besseren Kontrolle der Einstellung und Ablesung sowohl der Wellenlängen als auch der Intensitäten wurde eine Digitalanzeige für den Verstärker-output eingebaut*). Die Wellenlängenablesegenauigkeit liegt bei 2 bis 4 nm.

Als Fluoreszenzstandard diente ein Glasstandard (grün) der Firma C. Zeiss, Oberkochen.

Das Spalt- und Blendenprogramm für alle Messungen bestand aus folgender Kombination (nach der Numerierung des Aminco-Instrument Manual, 64, Instruction No. 768 E, S. 15):

Spalt Nr.	Spalt-Breite (mm)
1	3
2	2
3	3
4	3
5	2
6	3
7	1

*) Für diesen Einbau danke ich Herrn F.W. Rohlfs. Die Digitalanzeige war umschaltbar auf die Folgepotentiometer der Gitterdrehachse der beiden Monochromatoren

7.2.1. Herstellung der Lösungen

Stammlösungen der Probensubstanzen (Aromaten) wurden in Konzentrationen von 2oo µg/ml hergestellt und im Dunkeln in braunen Meßkolben aufbewahrt. Die Einwaagen wurden jedesmal mit Hilfe einer UV-Messung nachkontrolliert*). Durch entsprechende Verdünnung kann die gewünschte Arbeitskonzentration eingestellt werden. In Zeitabständen von zwei Wochen wurden die hergestellten Konzentrationen durch Fluoreszenzmessung kontrolliert und gegebenenfalls neue Einwaagen hergestellt.

7.2.2. Fluoreszenzmessung

Vor der Fluoreszenzintensitätsmessung wurden die Intensitäten des Lösungsmittelspektrums bei den gewünschten Wellenlängen ermittelt und als Blindwerte jeweils abgezogen. Alle Messungen wurden zwischen Messungen des Fluoreszenzstandards eingeschaltet und auf diese bezogen.

Zur Ermittlung der Verläßlichkeit der Messungen wurde die Reproduzierbarkeit der gemessenen Intensitäten

---

*) Für die UV-Messungen danke ich Frau R. Eschbach

mit einer Anthracenlösung in Cyclohexan ($5 \cdot 10^{-6}$-M) in Verbindung mit dem Referenzstandard geprüft (15 Messungen in Zeitabständen von 30 min, das Gerät jeweils neu eingeschaltet). Danach ergab sich ein Schätzwert der relativen Standardabweichung von etwa 2,5 % (gelegentliches Flackern der Xenonlampe verursachte plötzliche Erhöhung der Intensität; solche Werte wurden als Ausreißer verworfen). Die Xenonlampe wurde aus einem stabilisierten Wechselspannungsnetz betrieben. Für die Ermittlung des Arbeitsbereiches (Linearitätsbereich) wurden jeweils aus den Stammlösungen von Anthracen und Perylen mehrere Meßlösungen mit Konzentrationen zwischen 10^{-3} mol/l und 10^{-6} mol/l hergestellt. Jede Intensitätsablesung wurde nach entsprechender Reduktion (siehe Aminco-Manual) durch die reduzierte Intensität des Fluoreszenzstandard dividiert und die daraus erhaltenen relativen Intensitäten gegen die Konzentration in mol/l aufgetragen*).

---

*) Der hohe dynamische Bereich der Photometereinheit wurde durch streng proportionale Umschaltung von Präzisionswiderständen im Ein- und Ausgang der Verstärkereinheit voll ausgenutzt, die Linearität wurde in Testuntersuchungen geprüft

7.2.2.1. Bestimmung der spezifischen Intensitäten (μg^{-1})

Für die Bestimmung der Aromaten neben anderen Komponenten wurde die Eichung direkt in relative Intensitäten pro µg umgerechnet. Die Empfindlichkeiten pro µg der Substanzen wurden folgendermaßen ermittelt:

$$\underline{F} = K \cdot c \qquad (7.1)$$

$\underline{F}$ = relative Fluoreszenzintensität; c = Emitter-Konzentration ($\mu g\ ml^{-1}$), K = Proportionalitätskonstante.

Jede Meßprobe wurde jeweils in drei Verdünnungen bei Meter-Multiplier-Verstärkungsfaktoren zwischen o,o1 und o,1 mit Empfindlichkeitseinstellung von 5o % bestimmt. Der Durchschnittswert der drei Messungen wurde für die Auswertungen verwendet. Diese Methode war besonders hilfreich bei der Fluoreszenzmessung der Ölproben, da damit der Viskositätseinfluß kontrolliert und minimiert wurde.

7.3. Regressionsanalyse

7.3.1. Einfache Regression

Für Meßpunkt- und Konzentrationsvektoren werden die Konstanten der Gleichung

$$y_i = a_o + a_1 x_{i1} \qquad (7.2),$$

die den Zusammenhang zwischen den Meßparametern y_i und einer Variablen x_{i1} für die i-te Messung durch übliche lineare Regression berechnet[55]. Es kann im übrigen die unten beschriebene multiple Regression benutzt werden, wenn man für die Matrix $\underline{X}$ setzt:

$$\underline{X} = \begin{pmatrix} 1 & x_{11} \\ 1 & x_{21} \\ 1 & x_{31} \\ . & . \\ . & . \end{pmatrix}$$

7.3.2. Multiple lineare und nichtlineare Regression

Für die multiple Regressionsanalyse wurde ein Algorithmus verwendet, der von Knüppel und Stumpf [54]

benutzt wurde. Ein hierauf beruhendes Rechenprogramm von Bergmann und Potempa[56] wurde entsprechend modifiziert.

Der Algorithmus benutzt das folgende aus der einfachen Regression abgeleitete Rechenschema:

$$y_i = a_o + a_1 x_{i1} + a_2 x_{i2} + a_k x_{ik} \qquad (7.3)$$

worin y_i den Meßwert der i-ten Probe und x_{ik} die verschiedenen Variablen (Konzentrationen) z.B. eines Mehrkomponentensystemsdarstellen, läßt sich das obige System vereinfachend mit Vektoren und Matrizen beschreiben durch:

$$\underline{Y} = \underline{\underline{X}} \cdot \underline{A} \qquad (7.4)$$

hierin sind $\underline{Y}$ und $\underline{A}$ Spaltenvektoren, $\underline{\underline{X}}$ die Konzentrationsmatrix der Form:

$$\begin{pmatrix} 1 & x_{11} & x_{12} \\ 1 & x_{21} & x_{22} \\ 1 & x_{31} & x_{32} \\ . & . & . \\ . & . & . \end{pmatrix}$$

Für ein bestimmtes oder überbestimmtes System erhält

man ausgeglichene Werte des Koeffizientenvektors $\underline{A}$

$$\underline{A} = (a_0 \quad a_1 \quad a_2 \quad \ldots \quad)^T$$

durch Bildung der Linksinversen $\underline{\underline{L}}$ aus der Koeffizientenmatrix nach

$$\underline{\underline{X}}^T \cdot \underline{Y} = \underline{\underline{X}}^T \cdot \underline{\underline{X}} \cdot \underline{A}$$

$$(\underline{\underline{X}}^T \cdot \underline{\underline{X}})^{-1} \cdot \underline{\underline{X}}^T \cdot \underline{Y} = \underline{A}$$

$$\underline{\underline{L}} \cdot \underline{Y} = \underline{A} \qquad (7.5)$$

Dieser Algorithmus beinhaltet die Minimierung der Abweichungsquadratsummen der y_i von den Erwartungswerten nach Gauß.

Für den nichtlinearen Ansatz

$$y_i = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_1^2 + a_4x_2^2 + a_5x_1x_2 + \ldots \qquad (7.6)$$

läßt sich exakt dasselbe Rechenverfahren einsetzen, wenn man anstelle der nichtlinearen Glieder neue Variablen $z_j = f_j(x_1, \ldots x_n)$ einführt. Aus Gleichung (7.6) wird dann - sofern auch die linearen Glieder aus Vereinfachungsgründen in diese Transformation einbezogen werden -

$$Yi = a_0 + a_1z_1 + a_2z_2 + a_3z_3 + a_4z_4 + a_5z_5 \quad (7.7)$$

mit $z_1 = x_1$;
$z_2 = x_2$;
$z_3 = x_1^2$;
$z_4 = x_2^2$;
$z_5 = x_1x_2$;
$z_n = x_n \cdots$

Anstelle der Konzentrationsmatrix $\underline{\underline{X}}$ tritt dann die um einige Zeilen erweiterte Matrix $\underline{\underline{Z}}$. Die Regression bleibt aber in ihrem Rechengang unberührt:

$$\underline{\underline{A}} = \underline{\underline{L}}^* \cdot \underline{\underline{Y}}$$

mit

$$\underline{\underline{L}}^* = (\underline{\underline{Z}}^T \cdot \underline{\underline{Z}})^{-1} \cdot \underline{\underline{Z}}^T$$

$$Z = \begin{pmatrix} 1 & x_{11} & x_{12} & x_{11}^2 & x_{12}^2 & x_{11}x_{12} & \cdots \\ 1 & x_{21} & x_{22} & x_{21}^2 & x_{22}^2 & x_{21}x_{22} & \cdots \\ 1 & x_{31} & x_{32} & x_{31}^2 & x_{32}^2 & x_{31}x_{32} & \cdots \\ \cdots & \cdots & \cdots & \cdots & \cdots & \cdots & \cdots \end{pmatrix}$$

Es kann also dasselbe Programm benutzt werden, wenn ein Vektor anstelle der Konzentrationen x_{ij} die Matrix Z mit den entsprechenden Funktionen der x_{ij} besetzt. (Diese Funktionen können übrigens beliebig, z.B. auch transzendent, sein).

7.4 Programme

```
'BEGIN'
   'INTEGER' N,P,I,J,K,P1,AA,Q,RM;
   'REAL' S,SS,BI,LR,BST,SR,A,C1,C2,C3,C4,INT,SQR,SQR2,S2,SS2,A1;
   'ARRAY' ST[1:20],SZ,Z,BEST[1:2];
   'INTEGER'  'ARRAY' N2[1:2];
   READ(N,P,AA);
   Q:=0;        RM:=0;
   P1:=P+1;
   READ(ST);
   'BEGIN'
      'ARRAY' Y[1:N,1:P1];
      'PROCEDURE' M(P,X1,X2,X3,X4,X5);
      'INTEGER' P;
      'REAL' X1,X2,X3,X4,X5;
      'BEGIN'
         P1:=P+1;    RM:=RM+1;
         Q:=Q+1;
         'IF' P 'LESS' 2 'OR' P 'GREATER' 5 'THEN'
         'BEGIN'
           ,WRITE('('FEHLER IN P')');
            PRINT(Q,P);
            'GOTO' ENDE;
         'END';
         'BEGIN'
            'ARRAY' X[1:N 1:P1],SU[1:P1],PROSU[1:P1,1:P1],
.C,L[1:P,1:P],LNULL[1:P1],MPR,MBIN,B[1:P,1:2];

            'INTEGER' N1;
            3: 'FOR' I:=1 'STEP' 1 'UNTIL' N 'DO'
            'BEGIN'
               C1:=Y[I,1];
               C2:=Y[I,2];
               C3:=Y[I,3];
               C4:=Y[I,4];
               X[I,P1]:=INT:=Y[I,5];
               'FOR' J:=1 'STEP' 1 'UNTIL' P 'DO'
               X[I,J]:= 'IF' J 'EQUAL' 1 'THEN' X1
               'ELSE'  'IF' J 'EQUAL' 2 'THEN' X2
               'ELSE'  'IF' J 'EQUAL' 3 'THEN' X3
               'ELSE'  'IF' J 'EQUAL' 4 'THEN' X4
               'ELSE' X5;
            'END';
            30: 'FOR' I:=1 'STEP' 1 'UNTIL' P1 'DO'
            'BEGIN'
               S:=0;
               'FOR' J:=1 'STEP' 1 'UNTIL' N 'DO' S:=S+X[J,I];
               SU[I]:=S;
               'FOR' J:=1 'STEP' 1 'UNTIL' P1 'DO'
```

```
            'BEGIN'
               SS:=0;
               4: 'FOR' K:=1 'STEP' 1 'UNTIL' N 'DO'
               SS:=SS+X[K,I]*X[K,J];
               PROSU[I,J]:=SS;
            'END';
            'END';
            'FOR' Q:=1,2 'DO'
            'BEGIN'
               'FOR' I:=1 'STEP' 1 'UNTIL' P 'DO'
               'FOR' J:=I 'STEP' 1 'UNTIL' P 'DO'
             L[J,I]:=L[I,J]:= 'IF' Q 'EQUAL' 1 'THEN'
              PROSU[I,J]*N-SU[I]*SU[J]
               ELSE' PROSU[I,J];
              'FOR' I:=1 'STEP' 1 'UNTIL' P1 'DO'
             LNULL[I]:= 'IF' Q 'EQUAL' 1 'THEN'
             PROSU[I,P1]*N-SU[I]*SU[P1]
              'ELSE' PROSU[I,P1];
            * CLZ034(L,C,P);
              'FOR' I:=1 'STEP' 1 'UNTIL' P 'DO'
              'BEGIN'
                 BI:=0;
                 'FOR' J:=1 'STEP' 1 'UNTIL' P 'DO'
              BI:=BI+C[I,J]*LNULL[J];
                 B[I,Q]:=BI;
              'END';
              5: 'IF' AA 'EQUAL' 0 'THEN'  'GOTO' 6;
              WRITE('('EINF.BESTIMMTHEITSMASSE')');
              'FOR' I:=1 'STEP' 1 'UNTIL' P 'DO'  'FOR' J:=1 'STEP'
P' 1 '
UNTIL' P 'DO'
              'BEGIN'
                 TYPE(I,J);
                 WRITE('(     ')');
                 PRINT((L[I,J]*L[I,J]/(L[I,I]*L[J,J]))*100);
                 WRITE('(
          ')');
              'END';
              6:
              N2[Q]:=N1:=N-P-2+Q;
              LR:=LNULL[P1];
              'FOR' I:=1 'STEP' 1 'UNTIL' P 'DO'
LR:=LR-B[I,Q]*LNULL[I]
             ;'IF' Q 'EQUAL' 2 'THEN'
              'BEGIN'
                 LR:=LR*N;
                 LNULL[P1]:=LNULL[P1]*N;
```

---

* Die Prozedur CLZ034 invertiert die quadratische Matrix L mit den Dimensionen P,P in die quadratische Matrix C.

```
                'END';
                'FOR' I:=1 'STEP' 1 'UNTIL' P 'DO'/
 MBIN[I,Q]:=100*( 1-1/(C
 [I,I]*L[I,I]));

                7: 'FOR' I:=1 'STEP' 1 'UNTIL' P 'DO'
 MPR[I,Q]:=B[I,Q]*SQ
 RT(N1/LR)/SQRT(C[I,I]);
                BEST[Q]:=100*(1-LR/LNULL[P1]);
                Z[Q]:=100-(N-1)*(100-BEST[Q])/N1;
                8:
                SZ[Q]:=SQRT(LR/(N*N1));
                A:=SU[P1];
                'FOR' I:=1 'STEP' 1 'UNTIL' P 'DO'
                A:=A-B[I,Q]*SU[I];
                'IF' Q 'EQUAL' 1  'THEN' A1:=A/N;
             'END';

 OUTPUT(6,'('*,/20B,40S,10ZD,3/')',ST,RM);
 OUTPUT(6,'('3/,12B'('KOEFFIZ. INN.BEST.M. PRUEFWERTE')',7B,
       2('('B         B*      RESTSTR.     FRHGRD.')',9B),2/38B,
       2(7B,2(-3ZD.3D),-3ZD.4D,8ZD),2/43B'('O')',3B,-D-3DE-2D')',
        BEST[1],Z[1],SZ[1],N2[1],BEST[2],Z[2],SZ[2],N2[2],A1);
'FOR' I:=1 'STEP' 1 'UNTIL' P 'DO'
OUTPUT(6,'('/,30B,2(13ZD,3B,-D.3DE-2D,6ZD.2D,-6ZD.3D)')',
       I,B[I,1],MBIN[I,1],MPR[I,1],I,B[I,2],MBIN[I,2],MPR[I,2]);
                OUTPUT(6,'('2/')');
                SQR:=SQR2:=0;
                'FOR' I:=1 'STEP' 1 'UNTIL' N 'DO'
                'BEGIN'
                   SS:=A1;
                   SS2:=0;
                   'FOR' J:=1 'STEP' 1 'UNTIL' P 'DO'
                   'BEGIN'
                      SS2:=SS2+B[J,2]*X[I,J];
                      SS:=SS+B[J,1]*X[I,J];
                   'END';
                   S:=SS-Y[I,5];
                   S2:=SS2-Y[I,5];
                   SQR:=SQR+S**2;
                   SQR2:=SQR2+S2**2;

      OUTPUT(6,'('/6ZD,4(6ZD.3D),5(-8ZD.3D)')',I,Y[I,1],
             Y[I,2],Y[I,3],Y[I,4],Y[I,5],SS,S,SS2,S2);
   'END';
   OUTPUT(6,'('2/,65B,2(-22ZD.3D)')',SQR,SQR2);
   OUTPUT(60,'('/40S,2ZD,2ZD,2(4ZD,4ZD.3D)')',ST,N,P,N2[1],
          SQR,N2[2],SQR2);

            'END';
            ENDE:
         'END' PROCEDURE M;
    'FOR' I:=1 'STEP' 1 'UNTIL' N 'DO'
   'FOR' J:=1'STEP'1'UNTIL'P1'DO' READ(Y[I,J]);
         M(2,C1,C2,0,0,0);
         M(3,C1,C2,C1*C2,0,0);
         M(5,C1,C2,C1**2,C2**2,C1*C2);
      'END';
   'END';
```

7.5. Ergänzungsabbildungen und -Tabellen

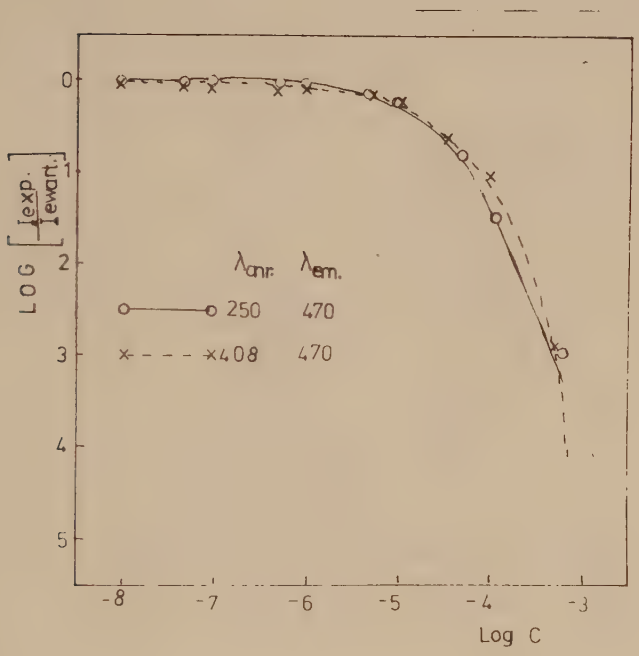


Abbildung 7-2: Verhältnis der beobachteten und erwarteten Fluoreszenzintensitäten für Perylen in Cyclohexan

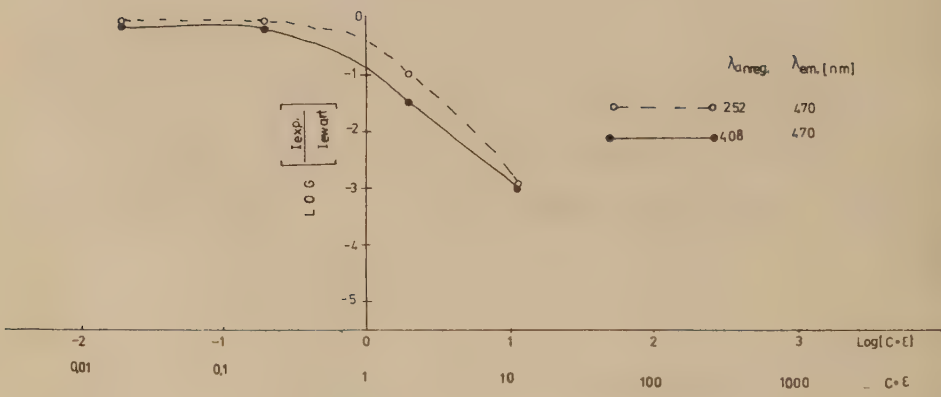


Abbildung 7-3: Daten aus Abbildung 7-2 mit εc (cm^{-1}) als Abszissenmaßstab

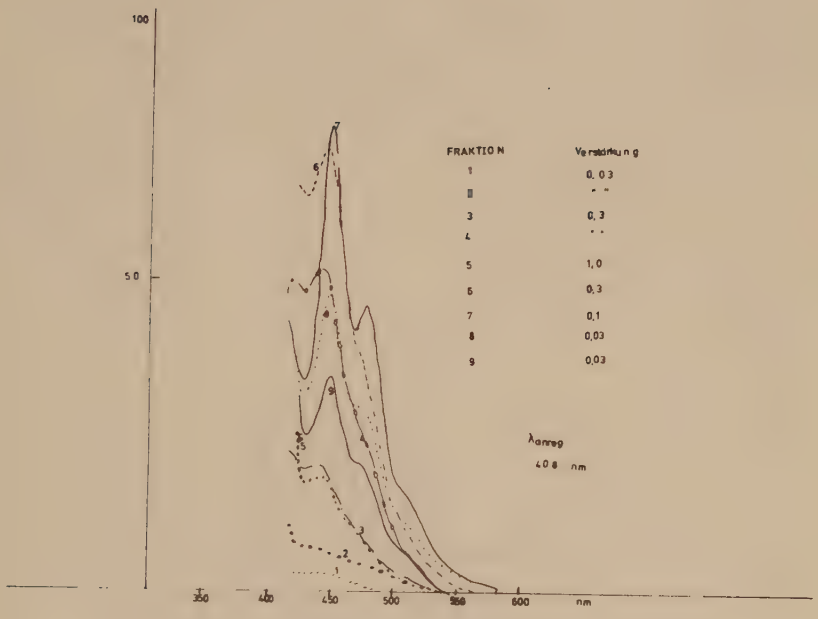


Abbildung 7-4: Fluoreszenzspektren von den Fraktionen einer FIA-Analyse von mit Perylen dotiertem Öl
Lösungsmittel: Benzol

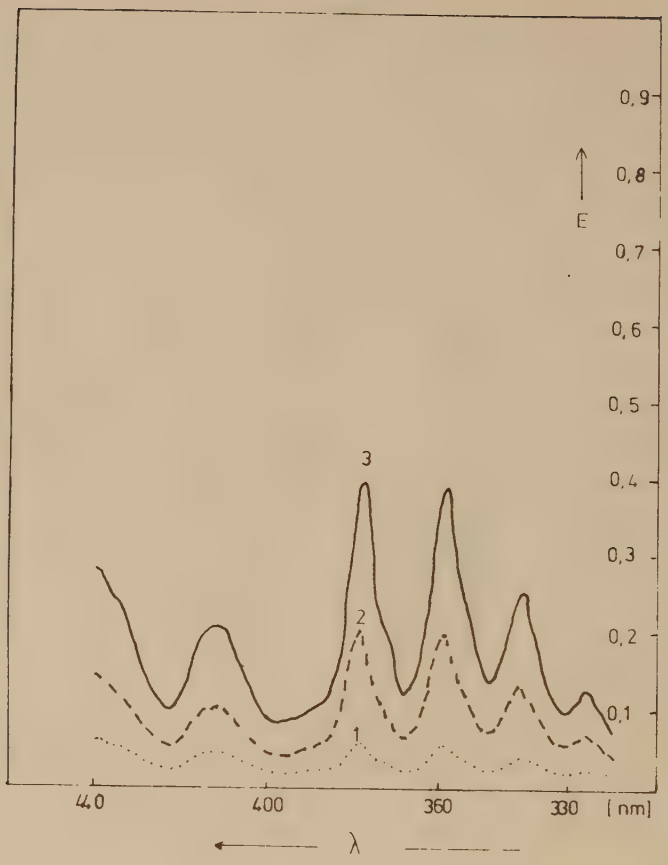


Abbildung 7-5: Absorptionsspektren von einem Anthracen- und Perylen-Gemisch

1: 5 .1o^{-5}-M Anthracen
6 ·1o^{-7}-M Perylen

2: 1,1·1o^{-4}-M Anthracen
2 ·1o^{-6}-M Perylen

3: 2,2·1o^{-4}-M Anthracen
3,6·1o^{-6}-M yerylen

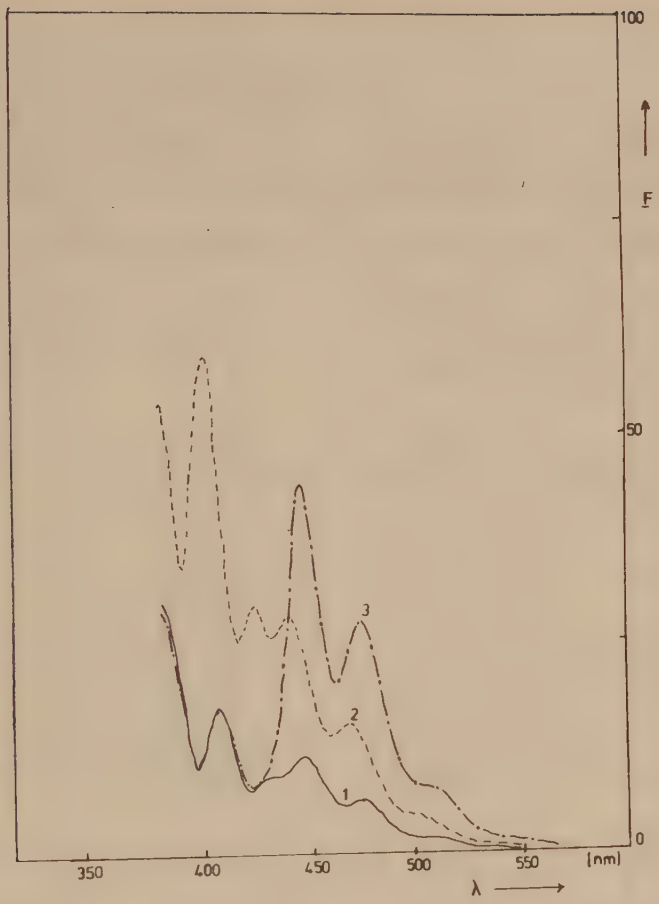


Abbildung 7-6: Fluoreszenzspektren von Anthracen/Perylen-Gemischen

1: 1oo ug Anthracen, 2o ug Perylen
2: 3oo ug Anthracen, 5o ug Perylen
3: 1oo ug Anthracen, 1oo ug Perylen

λ_{an} nm	j	λ_{em} nm	Vergleich der Modelle								
			Mod.I/II			Mod.I/III			Mod.II/III		
			F_{99}	F_{95}	S %	F_{99}	F_{95}	S %	F_{99}	F_{95}	S %
350 i=1	1	390	8,285	4,414	96	5,292	3,239	92	6,226	3,634	72
	2	408			99,1			93			18
	3	447			49			17			20,7
	4	475			37			65			77,3
360 i=2	1	390			92			84			66
	2	408			98			86,9			15
	3	447			99			94			27
	4	475			96,6			81,6			25,9
375 i=3	1	390			98,7			90,6			25,8
	2	408			74			94			95,1
	3	447			74			85,5			87
	4	475			31,1			96			98,4

Tabelle 7.1: Statistische Analyse (F-Test) der Rechen-Modelle aus den multiplen Regressionen

8. Literatur

(1) G. C. Stokes	Philos. Trans. Roy. Soc. London, Ser. A 142, 463 (1852)
(2) A. Jablonski	Z. Physik 94, 38 (1935)
(3a) T. M. Maugh	Science 183, 94o (1974)
(3b) D. Schmähl	Entstehung, Wachstum und Chemotherapie maligner Tumoren, 2. Aufl., Edition Cantor, Aulendorf 197o
(4) G. B. Kistiakowsky, A. Nelles	Physic. Rev. 41, 595 (1932)
(5) G. B. Kistiakowsky, G. R. Cuthberthson	J. chem. Physics 4, 9 (1936)
(6) C. R. Ingold, C. L. Wilson	J. chem. Soc. 941 (1936) J. chem. Soc. 955 (1936)
(7) C. L. Wilson	J. chem. Soc. 121o (1936)
(8a) P. Pringsheim	Ann. Akad. Warschau 5, 29 (1938)
(8b) A. Prichokto	J. exp. theoret. Physik 19, 383 (1949)
(8c) A. N. Faidysch	J. exp. theoret. Physik 2o, 65 (195o)
(9) G. Kortüm, B. Finck	Z. physik. Chem. Abt. B 52, 263 (1942)
(1o) E. Clar	Aromatische Kohlenwasserstoffe, Springer Verlag, Berlin, 1941
(11) M. Kasha	Discuss. Faraday Soc. 9, 14 (195o)

(12)	Th. Förster	Fluoreszenz organischer Verbindungen, Göttingen, 1951
(13)	R. L. Bowman, P. A. Caulfield, S. Udenfriend	Science (Washington) 122, 32 (1955)
(14)	G. A. Thommes, E. Leininger	Talanta 7, 181 (1961)
(15)	E. Sawicki, T. R. Hauser, T. W. Stanley	Int. J. Air Pollution 2, 253 (196o)
(16)	N. Mataga, K. Ezumi, T. Kada	Molecular Physics 1o, 2o1 (1966) 1o, 2o3 (1966)
(17)	J. B. Birks L. G. Christophorous	Nature 196, 33 (1962)
(18)	Th. Förster, H.-P. Seidel	Z. physik. Chem. 45, 58 (1965)
(19)	G. H. Schenk, D. R. Wirz	Analytic. Chem. 42, 1754 (197o)
(2o)	M. Zander	Z. analyt. Chem. 229, 252 (1967)
(21a)	M. Zander	Z. analyt. Chem. 226, 251 (1967)
(21b)	C. A. Parker	Proc. chem. Soc. 386 (1962)
(22)	C. A. Parker,	Analyst 9o, 1 (1965)
(23a)	S. P. McGlynn, B. T. Neely, C. Neely	Analytica chim. Acta 28, 472 (1963)
(23b)	L. V. S. Hood	Analytica chim. Acta 42, 199 (1968)

(24a) E.V. Shpols'kii	Usp. Fiz. Nauk 71, 215 (196o)
(24b) R. I. Personov, T. A. Teplitskaya	J. analyt. Chem. 2o, 1125 (1965)
(25) B. Muel, G. Lacroix	Bull. Soc. chim. France 2139 (196o)
(26) G. F. Kirkbright, C. G. de Lama	Proc. Soc. analytic. Chem. 11, 55 (1974)
(27) R. J. Keirs, R. D. Britts jr., W. E. Wentworth	Analytic. Chem. 29, 2o2 (1957)
(28a) R. P. Fisher, J. D. Winefordner	Analytic. Chem. 44, 948 (1972)
(28b) P. A. St. John, J. D. Winefordner	Analytic. Chem. 39, 5oo (1967)
(29) T. O'Haver, W. M. Parks	Analytic. Chem. 46, 1886 (1974)
(3o) C. A. Parker, W. J. Barnes	Analyst 85, 3 (196o)
(31a) C. Mihul, C. Ruscior, V. Pop	An. Stunt. Univ., Al. I Cuza, Iasi 2, 199 (1956)
(31b) M. L. Kats, N. K. Sidorov	Uchen. Zap. Saratov. Univ. 4o, 3 (1954)
(32a) H. Hellmann	Z. analyt. Chem. 272, 3o (1974)
(32b) E. H. Bamberg, H.-J. Neumann	Erdöl - Kohle 25, 44o (1972)
(33) F. Wilkinson in:	Noyes, Hammond, Pitts (Ed.), Advances in Photochemistry, Vol. 3, Interscience Publ., New York, 1964

(34) N. Turro, J. C. Dalton, D. S. Weiss in: O. L. Chapman (Ed.), Organic Photochemistry, Vol. 2, Marcel Dekker, New York, 1969

(35a) G. F. Lothian J. sci. Instruments 18, 2oo (1941)

(35b) G. F. Lothian J. Soc. chem. Ind. 61, 58 (1942)

(36) Loofbourow Vitamines and Hormones, Academic Press 1, 145 (1943)

(37) D. M. Hercules Fluorescence and Phosphorescence Analysis, Interscience Publ., New York, 1966

(38) C. A. Parker Analyst 84, 446 (1959)

(39) H. A. Staab Einführung in die theoretische organische Chemie, Verlag Chemie, Weinheim, 197o

(4o) E. Lippert Z. Elektrochem. 61, 962 (1957)

(41) J. B. Birks Photophysics of Aromatic Molecules. Wiley-Interscience, London, 197o

(42) B. L. Van Duuren Chem. Reviews 63, 325 (1963)

(43) P. Suppan J. chem. Soc., A 3125 (1968)

(44) E. C. Lim, J. D. Laposa, J. M. H. Yu J. molecular Spectroscopy 19, 412 (1966)

(45)	B. Stevens, J. T. Dubois	Trans. Faraday Soc. 59, 2813 (1963)
(46)	C. A. Parker, W. T. Rees	Analyst 87, 83 (1962)
(47)	H. S. Knight, S. Groennings	Analytic. Chem. 28, 1949 (1956)
(48)	O. Stern, M. Volmer	Physik Z. 2o, 183 (1919)
(49)	B. S. Solomon, C. Steel, A. Weller	Chem. Communic. 927 (1969)
(5o)	T. R. Evans	J. Amer. chem. Soc. 93, 2o81 (1971)
(51)	D. A. Labianca, G. N. Taylor, G. S. Hammond	J. Amer. chem. Soc. 94, 3679 (1972)
(52)	C. A. Parker	Photoluminescence of Solutions, Elsevier Publ. Co., New York, 1968
(53)	D. Severin	Dissertation, TU Clausthal 1972
(54)	H. Knüppel, A. Stumpf	Archiv-Eisenhüttenwesen 29, 1 (1958)
(55)	M. R. Spiegel	Theory an Problems of Statistics, Schaum' Outline Series, McGraw Hill, New York, 1972
(56)	K.-H. Potempa,	Dissertation, TU Clausthal 197o

Lebenslauf

des Denis Aghaizu, geboren am 24.12.1941 in Akuma Nigeria als 6. Kind der Eheleute Magdaleine und Raymond Chionye Aghaizu

1948 Einschulung in die Primary School in Akuma

1955 - 1961 Besuch des Christ the King College, Onitsha

Dezember 1961/Januar 1962 Higher School Certificate der Universität Cambridge (Reifeprüfung)

Januar bis Mai 1962 Tätigkeit als Mathematik- und Chemie-Lehrer in einer Secondary School

Juni 1962 Ankunft in Deutschland und Besuch des Deutschkurses für Ausländer

Winter-Semester 1962/63 Zulassung zum naturwissenschaftlichen Studium an der Ludwig-Maximilian-Universität München

Februar 1966 Abschluß der Diplom-Vorprüfung

Dezember 1969 Diplom-Chemiker-Hauptprüfung

Januar bis Mai 197o Tätigkeit bei einer pharmazeutischen Fabrik

Sommer-Semester 197o Beginn der Diplom-Arbeit im Institut für Physikalische Chemie der Universität München auf dem Gebiet der Katalyse

1971 Abschluß des Chemiestudiums als Diplom-Chemiker

1972 Eintritt in den Lehrstuhl für Analytische Chemie der Ruhr-Universität Bochum und Beginn dieser Doktorarbeit